



Universidade do Porto

Faculdade de Engenharia

**FEUP**

# **DESENVOLVIMENTO DE UM PROCESSO DE DESCONTAMINAÇÃO DE RESÍDUOS HOSPITALARES DO GRUPO IV**

**Susana Alexandra Gomes Nogueira Rodrigues**

(Tese de candidatura para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica submetida à Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto sob a orientação do Prof. José Tinoco Cavalheiro da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto).

Porto, 21 de Novembro de 2008

“A mente que se abre a uma nova ideia  
jamais voltará ao seu tamanho original.”

*Albert Einstein*

À minha mãe com muito carinho.  
À minha filha Sofia... por trazer uma alegria constante à minha vida.  
Ao Jorge... por estar sempre incondicionalmente presente e pelo amor e  
paciência infindáveis.

## RESUMO

Os resíduos hospitalares constituem um grave problema devido aos perigos potenciais de contaminação química, biológica e visual, sendo ainda de salientar que a sua especificidade levanta muitas vezes questões de ordem ética e moral. Cerca de 20% são considerados perigosos, e constituem um risco para todos aqueles que os produzem, manipulam ou estão expostos a eles nas instituições de saúde, podendo surgir as Hepatites B e C e a SIDA na sequência destas exposições.

Através de um estudo de carácter prático e experimental pretendeu-se descrever, explorar e otimizar as condições de funcionamento de um protótipo de descontaminação de resíduos hospitalares do grupo IV, procurando identificar factores que interferem com o desenvolvimento deste processo.

Os resultados obtidos mostram a eficiência deste protótipo na descontaminação dos resíduos hospitalares corto-perfurantes e a redução em 75% do volume destes resíduos.

Conclui-se que este protótipo consegue efectivamente transformar resíduos hospitalares perigosos em resíduos não perigosos equiparados a resíduos sólidos urbanos.

## **ABSTRACT**

Hospital wastes are considered a big problem due to the dangers of chemical, biological and visual contamination. We must also stress that its specificity as wastes raises many ethical and moral questions. About 20% are considered dangerous and harmful to those who produce, handle or are exposed to them in health institutions. Hepatitis B and C as well as AIDS may occur as a result to these exposures.

Through a study of the practical and experimental intended to describe, explore and optimize the functioning conditions of operation of a prototype for the decontamination of hospital waste in Group IV, seeking to identify factors that interfere with the development of this process.

The results show the efficiency of this prototype in the decontamination of hospital waste, preventing needlestick injuries, and 75% of reduction in the volume of wastes.

It follows that this prototype can actually transform hazardous hospital waste into non-hazardous waste treated as municipal waste.

## ÍNDICE GERAL

	Página
Agradecimentos	3
Resumo	4
Abstract	5
Índice Geral	6
Índice de Figuras	9
Índice de Tabelas	10
Índice de Gráficos	11
Lista de Siglas	12
<b>CAPÍTULO 1 – RESÍDUOS HOSPITALARES CONTAMINADOS</b>	<b>14</b>
1. Problemática dos Resíduos Hospitalares e sua Classificação	14
2. O Risco Associado aos R.H. e a Necessidade de Tratamento dos R.H. do Tipo IV	17
3. O Papel dos Agentes Biológicos nos R.H.	20
4. Sistema de Gestão Integrada dos R.H.	21
5. Tratamento dos R.H. do Grupo IV	23

<b>CAPÍTULO 2 – MICROBIOLOGIA</b>	<b>32</b>
1. Introdução	32
2. Características da Célula Bacteriana	32
3. Estrutura e Função da Célula Bacteriana	33
4. Metabolismo Bacteriano	35
5. Reprodução Bacteriana	36
6. Crescimento Bacteriano	37
7. <i>Bacillus subtilis</i>	43
<b>CAPÍTULO 3 – DESCONTAMINAÇÃO TÉRMICA</b>	<b>46</b>
1. Introdução	46
2. Inativação Microbiana	46
3. Calor seco	50
4. Polipropileno	51
<b>CAPÍTULO 4 – DESCONTAMINAÇÃO QUÍMICA</b>	<b>52</b>
1. Introdução	52
2. Hipoclorito de Sódio	52
<b>CAPÍTULO 5 – DESENVOLVIMENTO DO PROTÓTIPO EXPERIMENTAL</b>	<b>54</b>
1. Introdução	54
2. Protótipo Experimental	54
3. Funcionamento do Protótipo Experimental	56
<b>CAPÍTULO 6 – MÉTODO EXPERIMENTAL</b>	<b>59</b>
1. Introdução	59

2. Equipamento	59
3. Perfil Térmico	61
4. Ensaios Preliminares	61
5. Ensaios com Embalagens Corto-perfurantes	62
6. Ensaios Microbiológicos	63
<b>CAPÍTULO 7 – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS</b>	<b>66</b>
1. Introdução	66
2. Perfil Térmico	66
3. Ensaios Preliminares	68
4. Ensaios com Embalagens Corto-perfurantes	70
5. Ensaios Microbiológicos	75
<b>CAPÍTULO 8 – CONCLUSÕES</b>	<b>82</b>
<b>CAPÍTULO 9 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b>	<b>83</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>84</b>
<b>ANEXO A</b>	<b>90</b>



**ÍNDICE DE FIGURAS**

	<b>Página</b>
Fig.1 – Fluxograma de um sistema de gestão integrado de resíduos.	23
Fig.2 - Formas bacterianas.	33
Fig.3 - Célula procariótica.	34
Fig.4 - Técnica de Gram.	35
Fig.5 - Divisão simples de bactérias.	37
Fig.6 - Curva de crescimento bacteriano em sistema fechado.	38
Fig.7 – <b><i>Bacillus subtilis</i></b> .	44
Fig.8 – <b><i>Bacillus subtilis</i></b> no processo de esporulação.	45
Fig.9 – Protótipo experimental.	55
Fig.10 – Embalagem colocada no cone de descontaminação.	55
Fig.11 – Cone de descontaminação.	56
Fig.12 – Sistema de amortecimento com o cilindro de recolha e encapsulamento dos resíduos.	57
Fig.13 – Solução de hipoclorito de sódio e o sistema de vácuo “Venturi”.	57
Fig.14 – Desenho esquemático do protótipo experimental.	58
Fig.15 – Fluxograma representativo do funcionamento do protótipo experimental.	58
Fig.16 – Exemplo da carga a ensaiar.	59
Fig.17 – Caixas de uso doméstico.	60
Fig.18 – Embalagens corto-perfurantes da “Medical Express”.	61
Fig.19 – “Esporofar Bioindicador” para calor seco colocado num tubo de ensaio.	64
Fig.20 – Locais de monitorização da temperatura no cone de descontaminação.	66
Fig.21 – Embalagem com carga em fusão no cone de descontaminação.	74

Fig.22 – Tubo de cartão a encapsular a embalagem fundida com carga. 74

## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Vantagens de alguns métodos de tratamento de resíduos hospitalares.	26
Tabela 2 – Desvantagens de alguns métodos de tratamento de resíduos hospitalares.	26
Tabela 3 - Crescimento bacteriano exponencial.	41
Tabela 4 – Níveis de inactivação microbiana exigidos para o tratamento de resíduos hospitalares.	49
Tabela 5 – Especificações do “Esporofar Bioindicador”.	63
Tabela 6 – Temperaturas registadas no cone de descontaminação nos ensaios sem carga.	67
Tabela 7 – Temperaturas registadas no cone de descontaminação nos ensaios com carga.	67
Tabela 8 – Tempos de fusão das caixas de uso doméstico.	69
Tabela 9 – Tempos de fusão das embalagens vazias de corto-perfurantes.	71
Tabela 10 – Redução de volume total nos ensaios sem carga.	72
Tabela 11 – Tempos de fusão das embalagens corto-perfurantes com carga.	72
Tabela 12 – Redução de volume total nos ensaios com carga.	73
Tabela 13 – Valores das absorvâncias.	76
Tabela 14 – Contagem de microorganismos.	77
Tabela 15 – Tempo de deterioração do “Esporofar Bioindicador”.	79
Tabela 16 – Tempo necessário para ocorrer inactivação microbiana.	80

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	<b>Página</b>
Gráfico 1 – Temperaturas registadas em diferentes locais do cone de descontaminação sem carga.	67
Gráfico 2 – Temperaturas registadas em diferentes locais do cone de descontaminação com carga.	68
Gráfico 3 – Tempos de fusão das caixas de uso doméstico.	70
Gráfico 4 – Tempos de fusão das embalagens corto-perfurantes vazias.	71
Gráfico 5 – Tempos de fusão das embalagens corto-perfurantes com carga.	73
Gráfico 6 – Crescimento pelo método turbidimétrico.	76
Gráfico 7 – Crescimento pelo método das células viáveis.	77
Gráfico 8 – Tempos e inactivação microbiana.	80

## LISTA DE SIGLAS

ATCC – American Type Culture Collection  
ATP – Ácido Desoxirribonucleico  
CDC – Centers for Disease Control and Prevention  
CE – Comissão Europeia  
CER – Catálogo Europeu de Resíduos  
CFU – Unidades Formadoras de Colónias  
DGA – Direcção Geral do Ambiente  
DGS – Direcção Geral de saúde  
DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures  
DO – Densometria Óptica  
FEUP – Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto  
INR – Instituto Nacional de Resíduos  
NP – Norma Portuguesa  
OMS – Organização Mundial de Saúde  
PCA – Plate Count Agar  
PERH – Plano Estratégico de Resíduos Hospitalares  
RH - Resíduos Hospitalares  
RHC - Resíduos Hospitalares Contaminados  
RHP – Resíduos Hospitalares Perigosos  
RSU – Resíduos Sólidos Urbanos  
SIDA – Síndrome de Imunodeficiência Adquirida  
SNS – Serviço Nacional de Saúde  
SPS – Serviços Partilhados em Saúde  
SUCH – Serviço de Utilização Comum dos Hospitais  
EU – União Europeia  
USEPA – United States Environmental Protection Agency  
VHB – Vírus da Hepatite B

VHC – Vírus da Hepatite C

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

WHO – World Health Organization

## CAPÍTULO 1 – RESÍDUOS HOSPITALARES CONTAMINADOS

### 1. **Problemática dos Resíduos Hospitalares e sua Classificação**

Os resíduos hospitalares existem desde o aparecimento dos cuidados de saúde organizados e respectivos estabelecimentos. No entanto, até há bem pouco tempo, não eram considerados resíduos especiais e tinham como destino final as lixeiras ou aterros sanitários municipais. Hoje em dia, tendo em conta os riscos para a saúde e os impactes para o ambiente que advêm do seu circuito (desde a sua produção até ao seu destino final), são considerados resíduos especiais, pelas suas características físicas, químicas e/ou biológicas.

A necessidade de intervenção sobre resíduos é uma prioridade na sociedade moderna. Se, por um lado, a quantidade de resíduos produzida anualmente não pára de aumentar, podendo provocar uma notória poluição visual de amontoados indiscriminadamente, por outro, os resíduos podem ter implicações no ambiente e na saúde das pessoas.

Todos os indivíduos estão potencialmente em risco, incluindo aqueles que os produzem e os que os manipulam, quer dentro das unidades de prestação de cuidados de saúde quer fora destas, ou que estão expostos a eles como consequência de uma deficiente gestão. As Hepatites B e C e a SIDA são as três situações mais referenciadas pela Organização Mundial da Saúde que podem surgir na sequência destas exposições e cujo impacte na saúde é sobejamente conhecido.

As exigências actuais em termos de saúde pública e de saúde ambiental obrigam a que os intervenientes da saúde reflectam os seus próprios

desempenhos, com objectivo de otimizar as operações de gestão de resíduos, reduzindo consequentemente a quantidade dos mesmos a submeter a tratamentos ofensivos para o ambiente.

Os resíduos hospitalares (R.H.) são “resíduos resultantes de actividades médicas desenvolvidas em unidades de prestação de cuidados de saúde, em actividades de prevenção, diagnóstico, tratamento, reabilitação e investigação, relacionada com seres humanos ou animais, em farmácias, em actividades médico-legais, de ensino e em quaisquer outras que envolvam procedimentos invasivos, tais como acupunctura, piercings e tatuagens” (*Decreto-Lei n.º 178/06, de 5 de Setembro*). Este decreto define normas de organização, com exigências de separação selectiva na fonte e agrupa-os em função do seu grau de contaminação, dividindo-os em quatro grupos de resíduos hospitalares (I a IV), dos quais os Grupos I e II são constituídos por resíduos considerados não perigosos e os Grupos III e IV por resíduos perigosos:

**Grupo I** – Resíduos equiparados a urbanos, não apresentando exigências especiais de tratamento. Este grupo inclui:

- a) Resíduos provenientes de serviços gerais (gabinetes, salas de reunião e convívio, instalações sanitárias, etc.);
- b) Resíduos provenientes de serviços de apoio (oficinas, jardins, armazéns, etc.);
- c) Embalagens e invólucros comuns (papel, cartão, mangas mistas e outros de idêntica natureza);
- d) Resíduos provenientes da hotelaria, resultantes de confecção e restos de alimentos servidos a doentes, não incluídos no Grupo III.

**Grupo II** – Resíduos hospitalares não perigosos, não sujeitos a tratamentos específicos, podendo ser equiparados a urbanos. Este grupo inclui:

- a) Material ortopédico (talas, gessos, ligaduras gessadas) não contaminado e sem vestígios de sangue;

- b) Fraldas e resguardos descartáveis não contaminados e sem vestígios de sangue;
- c) Material de protecção individual utilizado nos serviços gerais e de apoio, com excepção do utilizado na recolha de resíduos;
- d) Embalagens vazias de medicamentos ou de outros produtos de uso clínico e/ou comum, com excepção do utilizado na recolha de resíduos;
- e) Frascos de soros não contaminados, com excepção dos do Grupo IV.

**Grupo III** – Resíduos hospitalares de risco biológico, contaminados ou suspeitos de contaminação, susceptíveis de incineração ou de pré-tratamento eficaz, permitindo posterior eliminação como resíduo urbano. Este grupo inclui:

- a) Todos os resíduos provenientes de quartos ou enfermarias de doentes infecciosos ou suspeitos, de unidades de hemodiálise, blocos operatórios, salas de tratamento, salas de autópsia e de anatomia patológica clínica e de laboratórios de investigação, com excepção dos do Grupo IV;
- b) Todo o material utilizado em diálise;
- c) Peças anatómicas não identificáveis;
- d) Resíduos que resultam da administração de sangue e derivados;
- e) Sistemas utilizados na administração de soros e medicamentos, com excepção dos do Grupo IV;
- f) Sacos colectores de fluidos orgânicos e respectivos sistemas;
- g) Material ortopédico contaminado ou com vestígios de sangue; material de prótese retirado a doentes;
- h) Fraldas e resguardos descartáveis contaminados ou com vestígios de sangue;
- i) Material de protecção individual utilizado em cuidados de saúde e serviços de apoio geral em que haja contacto com produtos contaminados (como luvas, máscaras, aventais e outros).



**Grupo IV** – Resíduos hospitalares específicos, de incineração obrigatória. Este grupo inclui:

- a) Peças anatómicas identificáveis, fetos e placentas, até publicação específica;
- b) Cadáveres de animais de experiência laboratorial;
- c) Materiais cortantes e perfurantes (agulhas, cateteres e todo o material invasivo);
- d) Produtos químicos e fármacos rejeitados, quando não sujeitos a legislação específica;
- e) Citostáticos e todo o material utilizado na sua manipulação e administração.

## 2. **O Risco Associado aos R.H. e a Necessidade de Tratamento dos R.H. do Tipo IV**

É importante fazer-se a distinção entre perigo e risco, já que frequentemente estes termos se confundem. **“Perigo”** é um termo descritivo. Refere-se à capacidade, intrínseca dos resíduos (situação em estudo), causarem um dano: é a origem do risco. O perigo que um resíduo coloca é a função de variáveis, como a sua composição, toxicidade, infecciosidade, mobilidade e persistência. O **risco** é a probabilidade que uma pessoa tem de ser lesada por um perigo particular, sendo função do perigo envolvido, da relação dose-resposta, da magnitude e duração da exposição humana. É a combinação da probabilidade de ocorrência do dano e da sua gravidade – nível de consequência.

A exposição aos resíduos hospitalares pode provocar doenças e alterações na saúde e bem-estar dos indivíduos e grupos populacionais, podendo a natureza dos riscos dever-se à presença de uma ou mais das seguintes características:

- Agentes infecciosos;
- Materiais invasivos, como são o caso dos corto-perfurantes;

- Citostáticos;
- Outros fármacos e químicos perigosos ou tóxicos;
- Radioactividade, nalgumas situações mais específicas.

Todos os indivíduos expostos a resíduos hospitalares perigosos estão potencialmente em risco, incluindo os produtores de resíduos no interior das unidades prestadoras de cuidados de saúde, os transportadores desses mesmos resíduos, os operadores das instalações de tratamento e destino final e ainda aqueles a eles expostos como consequência de um deficiente sistema de gestão.

Os principais grupos expostos são os seguintes (*PRÜSS et al, 1999*):

- Médicos, enfermeiros, auxiliar de acção médica ou de apoio e vigilância e profissionais de manutenção hospitalar, isto é, os trabalhadores dos estabelecimentos prestadores de cuidados de saúde;
- Funcionários de empresas que prestam serviços de apoio às actividades das unidades de saúde – lavandaria, limpeza, recolha e transporte de resíduos;
- Doentes e utentes, quer das unidades de saúde, quer em regime de cuidados domiciliários, incluindo também aqui os profissionais dos centros de saúde que efectuem o apoio domiciliário;
- Pessoas que visitam doentes internados nas unidades de saúde;
- Funcionários relacionados com o tratamento e destino final dos resíduos;
- Catadores.

De entre os grupos referidos, têm particular importância os doentes, os profissionais de saúde e os funcionários envolvidos no circuito próprio dos

resíduos hospitalares, dado serem os que estão mais directa ou indirectamente em contacto com estes resíduos e, portanto, com um maior tempo de exposição. No que respeita aos riscos profissionais encontram-se em primeiro lugar os trabalhadores que manipulam resíduos impregnados com sangue e os que estão envolvidos no circuito próprio dos resíduos hospitalares, estando expostos ao risco associado a picadas por seringas e agulhas que não tenham sido devidamente embaladas para tratamento posterior.

Os riscos para a saúde, decorrentes do contacto com os resíduos hospitalares, situam-se em quatro âmbitos diferentes:

- **Riscos biológicos** (doenças transmissíveis) devido a:
  - Resíduos contaminados, os quais contêm microorganismos patogénicos;
- **Riscos físicos**, devidos a:
  - Resíduos corto-perfurantes, podendo causar ferimentos;
  - Substâncias radioactivas;
  - Substâncias inflamáveis e explosivas, podendo causar lesões;
- **Riscos químicos**, devidos a:
  - Substâncias químicas tóxicas, as quais podem ser inaladas, ingeridas ou entrarem em contacto com a pele,
  - Substâncias carcinogénicas – exemplo dos resíduos provenientes dos laboratórios de investigação;
- **Incómodos psicofisiológicos.**

A maior evidência epidemiológica de risco para a saúde resultante da exposição aos resíduos hospitalares é a transmissão do vírus da imunodeficiência humana (VHI), agente etiológico da síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) e, ainda mais, dos vírus das hepatites B e C, devido a agulhas de seringas contaminadas com sangue humano, dado que estes dois vírus podem ser virulentos até oito dias após a utilização da agulha (OMS, 1994). Como os vírus das hepatites B e C sobrevivem mais tempo fora do organismo humano do que

o da SIDA, a probabilidade de haver contaminação pelo contacto com resíduos hospitalares é maior nos dois primeiros casos.

Os **corto-perfurantes** (agulhas, sistemas de soro, bisturis, facas, lâminas, vidros partidos, etc.) são, assim, um dos componentes dos resíduos hospitalares que maiores problemas apresentam, pelas seguintes razões:

- Podem actuar como reservatório de agentes patogénicos, os quais podem sobreviver por algum tempo devido à presença de sangue (*OMS, 1994*);
- Podem ser um caminho aberto á corrente sanguínea pela introdução directa na pele.

Um tratamento adequado e uma correcta deposição destes resíduos deve constituir um objectivo para a diminuição dos riscos para a saúde.

### 3. O Papel dos Agentes Biológicos nos R.H.

Entende-se por agentes biológicos ou microorganismos (bactérias, vírus ou fungos, incluindo os geneticamente modificados, as culturas de células e os endoparasitas humanos), susceptíveis de provocar infecções, alergias e intoxicações.

Os resíduos contaminados podem possuir uma variedade de microorganismos patogénicos, os quais podem entrar no corpo humano pelas seguintes vias:

- Via respiratória
- Via urinária
- Via cutânea
- Via digestiva

Os fluidos corporais são veículos de transmissão de doença com maior perigosidade. O sangue é o veículo de transmissão de agentes causadores de septicemias, bacteriemias, síndrome de imunodeficiência adquirida, hepatites virais B e C. As culturas concentradas de agentes patogénicos e as agulhas contaminadas são os resíduos que apresentam um maior risco potencial de transmissão de doença (PRÜSS *et al*, 1999).

Certos grupos bacterianos (Género *Bacillus*, Género *Clostridium* e *Sporosarcina ureae*) possuem genes de esporulação, tornando possível a modificação morfológica de células vegetativas em esporos que apresentam estruturas muito complexas e que sobrevivem em condições muito adversas, nomeadamente aos solventes orgânicos, radiações, antibióticos, calor, cloro e detergentes. Quando em condições adequadas, os esporos, germinam, dando origem a células vegetativas que contêm o material genético dos seus progenitores.

Para que um resíduo seja infeccioso é necessário que contenha microorganismos patogénicos e que estes sejam viáveis, isto é, que possam persistir e/ou multiplicar-se nesse meio. Por exemplo, o vírus da hepatite B é muito estável. Pode ser conservado muitos anos, a temperaturas negativas, da ordem dos -20°C. Resiste relativamente bem à temperatura ambiente moderada, podendo sobreviver durante várias semanas numa superfície, e mantém-se viável, mesmo depois de aquecido a 37°C, durante 60 minutos. É resistente ao álcool, ao éter, ao clorofórmio, a pH baixo podendo ainda resistir às radiações violetas.

Uma dose infecciosa de VHB e VHC pode sobreviver até uma semana numa gota de sangue encerrada no interior de uma agulha hipodérmica.

#### **4. Sistema de Gestão Integrada dos R.H.**

A gestão de R.H., tal como a dos restantes tipos de resíduos, visa a eliminação e/ou tratamento dos resíduos para que possam ser confinados em segurança, ponderando questões técnicas, económicas, humanas e ambientais. Segundo o Decreto-Lei n.º 178/06, é entendida como o conjunto das “operações de recolha, transporte, armazenagem, triagem, tratamento, valorização e eliminação dos resíduos, de forma a não constituir perigo ou causar prejuízo para a saúde humana ou para o ambiente”, sendo atribuídas as responsabilidades dessa gestão aos produtores, designadamente às unidades de saúde, às quais é possibilitada a realização de acordos com as autarquias e com empresas devidamente autorizadas.

A legislação exige o estabelecimento de um fluxograma, particularizado às características da unidade hospitalar em questão, de acordo com o tipo e quantidade de resíduos produzidos e com os locais de produção, e requer ainda, a definição de uma estratégia que facilite a implementação de medidas necessárias e a distribuição de recursos adequados às prioridades identificadas. Assim, uma boa gestão de R.H. passa por:

- Identificar e classificar todos os tipos de resíduos por fonte produtora ou sectores e serviços envolvidos;
- Prevenir e minimizar a produção de resíduos, principalmente os considerados perigosos;
- Implementar procedimentos de triagem, acondicionamento seguro e transporte de resíduos no interior da unidade prestadora de cuidados de saúde;
- Encaminhar os resíduos para valorização (reutilização, reciclagem), sempre que possível; Providenciar que o manuseamento, recolha e tratamento seja efectuado por pessoas devidamente formadas;

- Contratar com empresas devidamente licenciadas, a recolha, transporte externo, tratamento e destino final dos resíduos dos Grupos III e IV produzidos nas instituições hospitalares.

A base para uma gestão de resíduos adequada envolve necessariamente a política dos 4 R's: Redução, Reutilização, Reciclagem e Recuperação (DGA, 1995) e compreende uma sequência de operações, que inclui:

- Redução da produção de R.H. na fonte;
- Reutilização e reciclagem dos resíduos;
- Recuperação das matérias-primas e/ou valor energético dos resíduos;
- Tratamento dos resíduos (físico, químico ou biológico) para que possam ser depositados com segurança;
- Deposição dos resíduos resultantes do tratamento.

O sistema integrado de gestão de resíduos é composto por um conjunto diversificado de operações, as quais podem ser agrupadas, desde a produção até ao destino final, nos seguintes elementos funcionais:

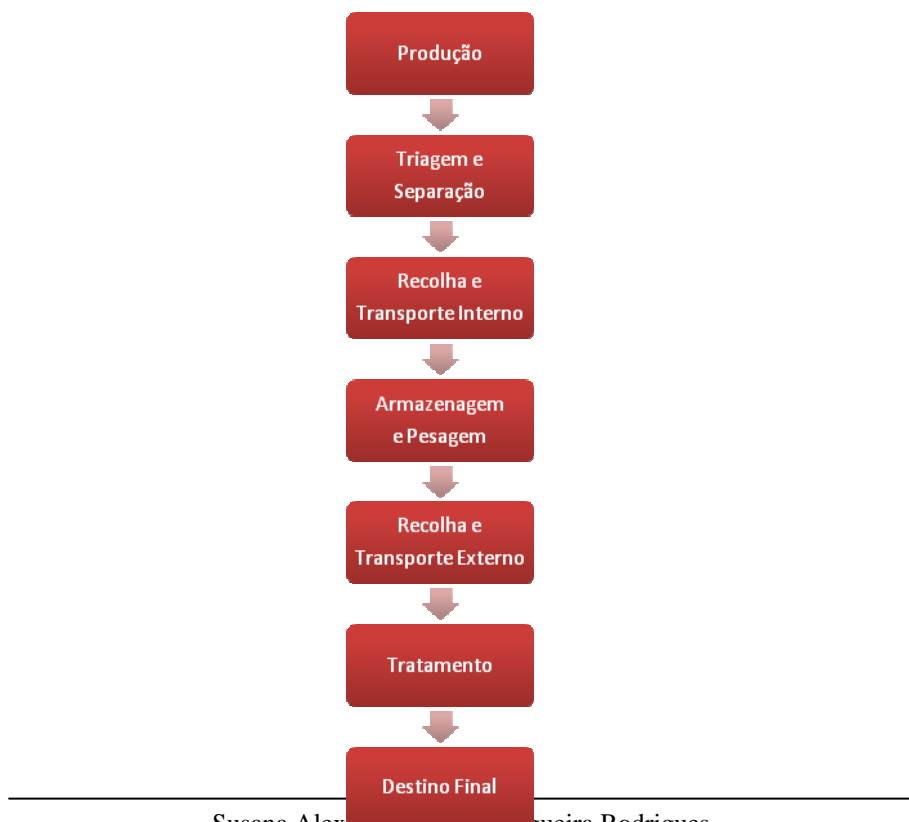


Fig.1 – Fluxograma de um sistema de gestão integrado de resíduos.

## 5. Tratamento dos R.H.

Entende-se por “tratamento” o processo manual, mecânico, físico, químico ou biológico que altere as características de resíduos de forma a reduzir o seu volume ou perigosidade bem como a facilitar a sua movimentação, valorização ou eliminação após as operações de recolha (*Decreto-Lei n.º 178/06, de 5 de Setembro*).

De acordo com a legislação em vigor (*Decreto-Lei n.º 178/06, de 5 de Setembro*) e como foi referido anteriormente, os resíduos do grupo I e II, considerados não perigosos, não apresentam exigências especiais para o seu tratamento, podendo ser equiparados a urbanos. Os resíduos do grupo III, resíduos contaminados ou suspeitos de contaminação, deverão ser sujeitos a incineração ou a um pré-tratamento eficaz, podendo posteriormente ser eliminados como resíduo urbano. Os resíduos do grupo IV, que inclui resíduos de vários tipos, são de incineração obrigatória (os citostáticos devem ser incinerados a uma temperatura mínima de 1100 °C).

Qualquer dos processos de tratamento referidos (e.g. incineração, pré-tratamento) poderá ser desenvolvido pela própria unidade de saúde, ou pela celebração de protocolos ou contratos com outras entidades, de natureza pública ou privada, desde que devidamente licenciadas. Em Portugal, o tratamento dos resíduos hospitalares teve, ao longo dos anos, como processo preferencial a incineração nas unidades de saúde, embora não funcionando nas condições mais adequadas, em termos de saúde pública e ambiente. Problemas motivados, nomeadamente, pela localização, antiguidade de construção, reduzida dimensão e equipamento obsoleto.



Segundo Portugal-Ramos *et al.* (1999), em Dezembro de 1998, encontravam-se em funcionamento 34 unidades de incineração em hospitais do SNS, 12 das quais estavam a ser exploradas pelo Serviço de Utilização Comum dos Hospitais (SUCH) e as restantes pelas próprias unidades de saúde. Na Estratégia Nacional de Gestão de Resíduos Hospitalares (1999/2000) (DGS/INR, 1999), foi proposto o encerramento destas doze unidades no decorrer do ano 2000, estando condicionado, no entanto, pela requalificação das unidades de incineração que iriam permanecer.

O PERH prevê a necessidade de duas instalações de incineração (podendo ser encarado, a médio prazo, a requalificação de uma terceira). Este número pretende dar garantias de um adequado controlo e gestão ambiental, procurando dar resposta em termos de capacidade de tratamento, de minimização dos problemas de exploração e de optimização dos circuitos de transporte.

De acordo com Portugal-Ramos *et al.* (1999), as unidades de incineração previstas para o tratamento dos resíduos do grupo IV, gerados pelo sector público e privado, apenas são viáveis se for reforçada a capacidade instalada de tratamento para os resíduos do grupo III, recorrendo a tecnologias alternativas. Como não existe uma tecnologia de tratamento de resíduos hospitalares ideal, deve ser seleccionado o método de tratamento mais apropriado às características dos resíduos e da unidade de saúde, considerando custos de investimento, de exploração e manutenção, eficiência do tratamento, capacidade de eliminação, perigosidade do resíduo pós-tratamento e possível poluição ambiental.

Actualmente, a central de incineração de resíduos hospitalares do parque de saúde de Lisboa, é a única instalação do País e a única no Continente capacitada para o tratamento de Resíduos Hospitalares do Grupo IV - resíduos específicos de risco biológico e químico, de incineração obrigatória - com tratamento das

emissões gasosas. Esta central, encontra-se ainda capacitada para o tratamento de Resíduos Hospitalares do Grupo III - resíduos de risco biológico, contaminados ou suspeitos de contaminação. A sua exploração e manutenção estão atribuídas, por concessão, ao SUCH | Serviço de Utilização Comum dos Hospitais, desde 1996, que obteve em Julho passado licença de exploração, válida até 2012, por parte da Direcção Geral de Saúde (SPS).

O futuro centro de incineração de resíduos hospitalares perigosos a nível nacional será no Eco Parque do Relvão, na Chamusca.

Nas tabelas 1 e 2 é possível visualizar uma comparação simples, em relação às vantagens e desvantagens respectivamente, dos quatro principais métodos de tratamento de resíduos hospitalares (incineração, autoclavagem, microondas e desinfecção química) (PERH,1999).

Incineração	Autoclavagem	Microondas	Desinfecção Química
<ul style="list-style-type: none"><li>• redução da massa/ volume dos resíduos;</li><li>• resíduo não identificável após tratamento;</li><li>• aceitável para todos os tipos de resíduos;</li><li>• potencial recuperação de calor.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• redução do volume dos resíduos;</li><li>• custos de investimento e operação baixos;</li><li>• fácil controlo biológico.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• redução significativa do volume;</li><li>• resíduo irreconhecível;</li><li>• ausência de descarga de líquidos.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• redução significativa do volume;</li><li>• resíduo irreconhecível;</li><li>• processamento rápido;</li><li>• resíduo sem cheiro.</li></ul>

Tabela 1 – Vantagens de alguns métodos de tratamento de resíduos hospitalares.

Incineração	Autoclavagem	Microondas	Desinfecção Química
<ul style="list-style-type: none"> <li>• oposição pública;</li> <li>• custos de investimento/exploração elevados;</li> <li>• elevados custos de manutenção, controlo e reparação;</li> <li>• formação de dioxinas e furanos;</li> <li>• restrições legais às emissões.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• aparência do resíduo inalterada;</li> <li>• massa do resíduo inalterada;</li> <li>• não aplicável a todos os tipos de resíduos;</li> <li>• emissões atmosféricas não caracterizadas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• custos de investimento elevados;</li> <li>• aumento da massa de resíduos;</li> <li>• não aplicável a todos os tipos de resíduos;</li> <li>• potenciais fragmentos contaminados;</li> <li>• emissões atmosf. não caracterizadas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• custos de investimento elevados;</li> <li>• não aplicável a todos os tipos de resíduos;</li> <li>• armazenagem e utilização química;</li> <li>• emissões atmosféricas não caracterizadas.</li> </ul>

Tabela 2 – Desvantagens de alguns métodos de tratamento de resíduos hospitalares.

A redução de volume referenciada como vantagem na autoclavagem, na microondas e na desinfecção química só se verifica se associada a um processo de fragmentação.

## Incineração

Em termos históricos, a incineração de resíduos hospitalares tem sido reconhecida como um método preferencial de tratamento, sendo a tecnologia mais utilizada nos países ocidentais e nos Estados Unidos (*Turnberg, 1996*).

A incineração é um processo no qual os resíduos são destruídos por via térmica, geralmente com recuperação de energia. Uma instalação de incineração, de acordo com a legislação (*Decreto-Lei n.º 85/2005, de 28 de Abril*), é "um equipamento técnico afecto ao tratamento de resíduos por via térmica com ou sem recuperação de calor produzido por combustão, abrangendo o local de implantação e o conjunto da instalação constituído pelo incinerador, seus sistemas de alimentação por resíduos, por combustíveis e pelo ar, bem como os

aparelhos e dispositivos de controlo das operações de incineração, de registo e de vigilância contínua das condições de incineração".

O processo de incineração apresenta as seguintes fases:

1. Fase de secagem, na qual se dá uma diminuição do teor de água dos resíduos;
2. Fase de ignição e alimentação, na qual o produto seco entra na zona de combustão a uma temperatura de 400° a 500°C;
3. Fase de combustão completa que se dá sobre a massa de resíduos, onde a temperatura de combustão varia entre 800° - 1100°C;
4. Fase de extinção, da qual resultam as escórias que serão encaminhadas para um aterro sanitário destinado a este fim.

Os gases resultantes da incineração têm de sofrer um tratamento posterior, uma vez que na sua composição se incluem diversas substâncias tóxicas como chumbo, cádmio, mercúrio, crómio, arsénio, cobalto e outros metais pesados, ácido clorídrico, óxidos de azoto e dióxido de enxofre, dioxinas e furanos, clorobenzenos, clorofenóis e PCBs. Os níveis que estes subprodutos podem atingir são altamente dependentes do tipo de tecnologia específica de cada unidade e dependem igualmente de uma série de outros factores como a composição dos resíduos, do tipo de sistema de incineração, etc. Deste modo, é necessária a utilização da tecnologia de duas câmaras para garantir uma completa combustão.

Actualmente, o principal problema da incineração está na emissão de poluentes como, as dioxinas. As dioxinas fazem parte da família mais perigosa de compostos de origem antropogénica que existe, englobam cerca de 220 diferentes substâncias químicas que têm carbono, oxigénio e cloro como constituintes base. Invisíveis, inodoros e bioacumuláveis, estes compostos são potentes causadores de cancro com efeitos crónicos no sistema imunitário, reprodutor e

hormonal, bem como no crescimento e desenvolvimento dos seres vivos. Em Setembro de 1998 a USEPA anunciou que não existe um nível “aceitável” de exposição às dioxinas, visto que são cumulativas e degradam lentamente, de momento os níveis permitidos de emissões de dioxinas em incineradores em Portugal são de  $0,1\text{ng TEQ m}^3$ , medidos anualmente (*EnviEstudos*).

A Directiva (2000/76/EC) regulamenta a operação dos incineradores de resíduos e limita os valores de emissão de substâncias específicas. Esta acção legislativa pretende proteger os diferentes meios ambientais (ar, solo, águas superficiais e subterrâneas) e minimizar os riscos para a saúde pública resultantes da incineração de resíduos, implementando e mantendo dentro de condições operacionais restritas os requisitos técnicos e os valores limite de emissão destas unidades. A exposição a poluentes ambientais envolve uma série de estádios, tendo o seu início com a libertação do poluente na fonte e o seu transporte através do ambiente. E, apesar da colheita de amostras e a análise de dioxinas ser um processo difícil e dispendioso, dado serem substâncias que surgem em concentrações muito baixas, mas mesmo assim perigosas para a saúde pública e ecossistemas, e não existirem assim medições feitas em contínuo como para outros poluentes, estas devem ser cuidadosamente monitorizadas.

O processo tecnológico da Central de Incineração do SUCH é uma oxidação seca, realizado a temperaturas elevadas, que transforma combustível (os RH perigosos, orgânicos e combustíveis) em matéria inorgânica e incombustível, reduzindo significativamente o peso e volume (*WHO, 1999*) dos resíduos mas também a sua perigosidade, visto que elimina os agentes patogénicos e destrói resíduos de medicamentos e outras substâncias químicas. Desta combustão resultam gases e produtos do respectivo tratamento, assim como cinzas e escórias. A incineração dos R.H.P. é efectuada em dois estágios. O primeiro ocorre na câmara de pirólise, a uma temperatura entre  $850^{\circ}$  e  $950^{\circ}\text{C}$  e em

depressão (50 Kpa). O segundo estágio de incineração compreende a combustão da fase gasosa e das partículas resultantes da pirólise efectuada na primeira câmara de combustão. As câmaras encontram-se ligadas pela conduta de interligação. O tratamento dos gases resultantes dos processos de combustão é feito, por via seca, através de um processo que consiste na injeção de bicarbonato de sódio em pó e carvão activado directamente no fluxo de gás. Devido à injeção combinada de carvão activado, os gases são igualmente depurados de metais pesados e de dioxinas e furanos, de acordo com a legislação em vigor (*SPS*).

### **Autoclavagem**

A autoclavagem ou esterilização por vapor, inicialmente era utilizada em laboratórios, como método de esterilização de culturas biológicas. Este método alternativo de tratamento principiou a ser valorizado quando as unidades de incineração (nas unidades de saúde) começaram a ser encerradas, por não ser economicamente viável cumprirem os requisitos, cada vez mais restritivos, em relação às emissões atmosféricas (OTA, 1990).

A autoclavagem (desinfecção com calor húmido) pode ser definida como um sistema de descontaminação dos resíduos por vapor saturado a alta temperatura e em sobrepressão durante um período de tempo suficiente para destruir potenciais agentes patogénicos ou reduzi-los a um nível que não constitua risco. Segundo as normas da USEPA é capaz de atingir uma inactivação microbiológica do grupo 4. O processo de autoclavagem inclui ciclos de compressão e de descompressão de forma a facilitar o contacto entre o vapor e

os resíduos. Este processo tem a vantagem de ser familiar a muitos técnicos que o utilizam para esterilizar diversos tipos de material (*Feijão Martins*).

O processo de autoclavagem é adequado para o tratamento da grande maioria dos resíduos infecciosos (Turnberg, 1996). Em relação às peças anatómicas (com excepção das de grandes dimensões, em que a desinfecção é mais demorada), os inconvenientes da aplicação deste processo de tratamento são de origem unicamente estética, podendo ser solucionados pela aplicação de trituração/compactação. No entanto, deve ser estudado se esta opção é economicamente viável, o que depende de caso para caso. As embalagens que vão à autoclave devem favorecer a penetração do vapor. O volume dos resíduos é, também, um factor importante na autoclavagem, pois grandes cargas podem dificultar que toda a carga atinja a temperatura necessária à esterilização, sendo mais eficiente autoclavar duas pequenas cargas, do que uma carga demasiado volumosa (WHO, 1991-93). A eficiência do processo está directamente relacionada com os factores tempo, temperatura e pressão, sendo fundamental que a totalidade da carga seja sujeita por tempo suficiente, à temperatura necessária.

## CAPÍTULO 2 – MICROBIOLOGIA

### 1. Introdução

O crescimento de qualquer ser vivo é um processo dinâmico que requer energia e nutrientes para a síntese dos componentes celulares e manutenção da célula. De todos os organismos vivos, os microrganismos são os mais versáteis e diversificados nas suas exigências nutricionais.

O estudo deste tema (microbiologia) e as técnicas microbiológicas utilizadas foram essenciais para o desenvolvimento do tema em questão, uma vez que durante a realização deste trabalho foi necessária a manipulação bacteriana, nomeadamente com indicadores biológicos, onde foi indispensável o cultivo, o crescimento e a inactivação destas bactérias.

### 2. Características da Célula Bacteriana

As células bacterianas medem de 1  $\mu\text{m}$  a 3,5  $\mu\text{m}$  de comprimento por 0,5 a 0,7  $\mu\text{m}$  de diâmetro.

As bactérias podem assumir essencialmente quatro formas: forma esférica (cocos), de bastão (bacilos), espiral (espirilos) e de vírgula (vibrião). Os cocos e os bacilos podem associar-se em colónias, formando pares (“diplo-”), grupos (“estafilo-”) ou cadeias (“estrepto-”). As formas e arranjos são características de cada género ou espécie e este conhecimento auxilia a identificação dos grupos bacterianos. A figura 2 ilustra as diversas formas bacterianas.



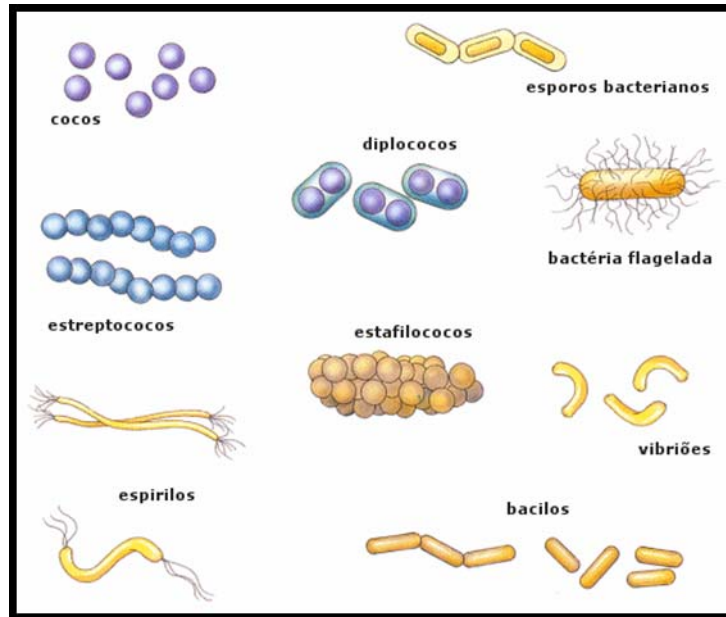


Fig.2 - Formas bacterianas.

As bactérias podem ser móveis ou imóveis. O seu movimento pode ser ondulatório, rotatório e principalmente através dos flagelos. Estes são filamentos contrácteis, apenas visíveis ao microscópio óptico com o uso de técnicas especiais de coloração.

### 3. Estrutura e Função da Célula Bacteriana

Externamente, a célula pode ser ou não revestida pela cápsula, que tem a função de protecção, facilitando a sobrevivência. Em seguida, existe a parede celular, que envolve estreitamente a região citoplasmática, a qual é delimitada por uma membrana fina e delicada, chamada membrana celular ou membrana citoplasmática. O citoplasma é uniforme e possui uma estrutura básica formada por uma grande quantidade de ribossomas, sedes da síntese proteica. A região nuclear da célula é evidente, embora difusa, sendo formada por um sistema de fibrilas muito finas e próximas, que consistem quase totalmente de DNA. Não existe membrana nuclear. O citoplasma pode apresentar invaginações da

membrana citoplasmática, chamadas mesossomas ou ainda inclusões ou grânulos, contendo substâncias de reserva como lipídios, glicogênio, amido, etc. (Fig.3).

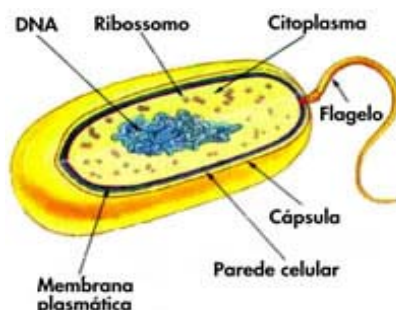


Fig.3 - Célula procariótica.

Os gêneros *Bacillus* e *Clostridium* são os únicos que produzem estruturas de resistência chamadas esporos.

Um dos principais métodos utilizados para a taxonomia de bactérias é a coloração de Gram. Assim designada em memória de Christian Gram, que desenvolveu o procedimento em 1884, a coloração de Gram classifica as bactérias em Gram-positivas ou Gram-negativas e continua a ser um dos métodos mais úteis para classificar as bactérias.

Existem grandes diferenças entre bactérias Gram-positivas (roxo) e Gram-negativas (vermelho) quanto à natureza e permeabilidade da parede celular. Uma substância mucocomplexa, denominada peptidoglicano, é o único composto macromolecular presente em todas paredes de bactérias, sendo responsável pela rigidez. Geralmente, as paredes das bactérias Gram-positivas contêm mais substância mucocomplexa do que as paredes das Gram-negativas. Além da substância mucocomplexa, as paredes das células das bactérias Gram-negativas contêm grandes quantidades de proteínas, lipídios e polissacarídeos. As bactérias Gram-negativas possuem parede celular mais permeável e, assim, o álcool utilizado na coloração consegue remover de dentro da célula o complexo que se forma entre o cristal-violeta e o iodo. As bactérias Gram-positivas

possuem parede celular mais impermeável e o álcool não consegue descolorá-las.

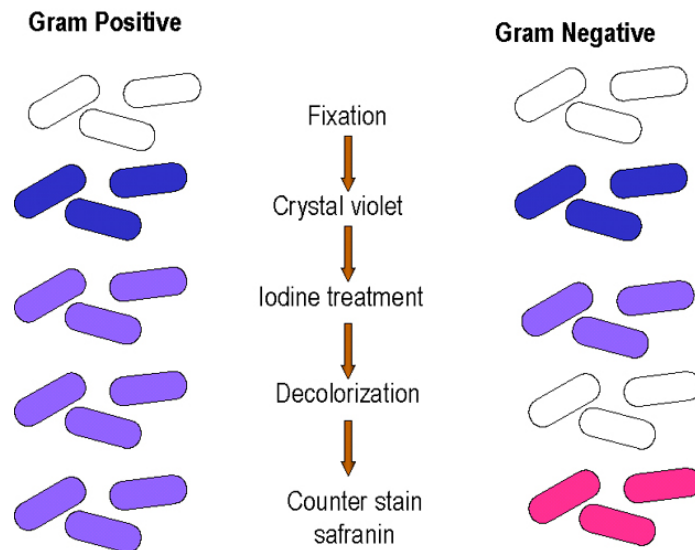


Fig.4 - Técnica de Gram.

#### 4. Metabolismo Bacteriano

As bactérias apresentam-se numa grande variedade de diferentes metabolismos:

- As bactérias autotróficas necessitam apenas de dióxido de carbono como fonte de carbono;
- As fotoautotróficas obtêm a energia na forma de luz, para a fotossíntese;
- As quimioautotróficas obtêm energia pela oxidação de compostos químicos;
- As heterotróficas dependem duma fonte orgânica de carbono.

Para além desta classificação, as bactérias podem distinguir-se com base na fonte de redutores que utilizam na sua respiração:

- as litotróficas usam compostos inorgânicos, tais como água, sulfureto de hidrogénio ou amónia; e
- as organotróficas usam compostos orgânicos, tais como açúcares ou ácidos orgânicos.

Estes diferentes tipos de metabolismo podem estar combinados num único microrganismo.

Outros requisitos nutricionais das bactérias incluem nitrogénio, enxofre, fósforo, vitaminas e elementos metálicos como sódio, potássio, cálcio, magnésio, magnésio, ferro, zinco, cobalto, cobre e níquel.

No que diz respeito à reacção com o oxigénio, a maioria das bactérias podem ser colocadas em três grupos:

- aeróbicos – podem crescer apenas na presença de oxigénio;
- anaeróbicos – podem crescer apenas na ausência de oxigénio; e
- facultativos – podem crescer tanto na presença como na ausência de oxigénio.

## **5. Reprodução Bacteriana**

As bactérias podem reproduzir-se com grande rapidez, dando origem a um grande número de descendentes em apenas algumas horas. A maioria delas reproduz-se assexuadamente, por cissiparidade, também denominada de divisão simples ou bipartição (Fig.5). Neste caso, cada bactéria divide-se em duas outras bactérias geneticamente iguais, supondo-se que não ocorrem mutações, isto é, alterações no seu material genético.

Em algumas espécies de bactérias pode ocorrer recombinação de material genético. Neste processo, duas bactérias geneticamente diferentes unem-se por meio de pontes citoplasmáticas. Uma delas, a bactéria doadora, injecta parte do

seu material genético na outra, a bactéria receptora. Neste momento, as duas bactérias separam-se. No interior da bactéria receptora, ocorrem recombinações génicas. Em seguida, essa bactéria reproduz-se assexuadamente por cissiparidade, dando origem a novas bactérias, portadoras de material genético recombinado.

A conjugação possibilita o aumento da variabilidade genética da população bacteriana, o que contribui para a adaptação da bactéria a determinado ambiente.

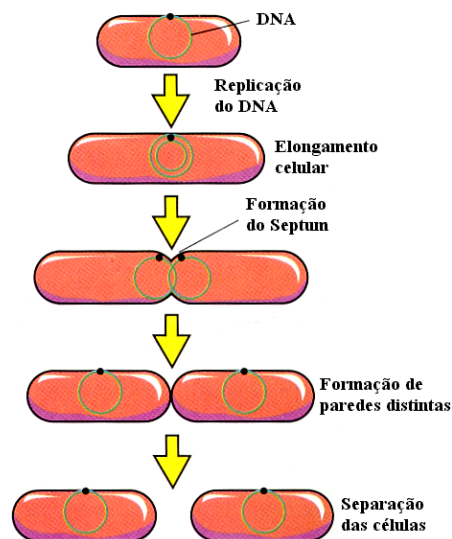


Fig.5 - Divisão simples de bactérias.

## 6. Crescimento Bacteriano

Quando os microrganismos se reproduzem por bipartição ou fusão binária o crescimento conduz ao aumento do número de células. O crescimento de uma população microbiana é estudado por análise da respectiva curva de crescimento. Quando os microrganismos são cultivados num meio líquido em sistema fechado as concentrações de nutrientes sofrem um declínio enquanto aumentam as concentrações dos produtos de degradação. O crescimento dos

microrganismos que se reproduzem por divisão binária pode ser representado graficamente como o logaritmo decimal do número de células versus o tempo de incubação. A curva resultante caracteriza-se por quatro fases distintas: fase de arranque, fase exponencial de crescimento, fase estacionária e fase de morte (Fig.6).

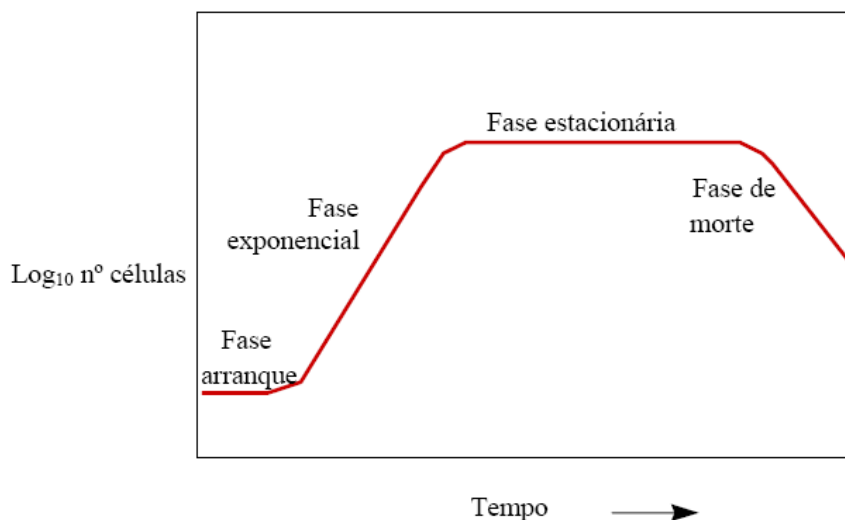


Fig.6 - Curva de crescimento bacteriano em sistema fechado.

### Fase de arranque

Quando se introduz os microrganismos num meio de cultura fresco não ocorre um aumento imediato do número de células. Embora não haja logo divisão celular, novos componentes estão a ser sintetizados pelas células. Esta fase é necessária por uma série de razões. As células podem estar envelhecidas e portanto com depleção de ATP, co-factores essenciais, enzimas (por exemplo, as que participam na replicação do ADN) e ribossomas. Estes compostos têm de ser sintetizados antes que o crescimento possa começar. O meio pode também ser diferente daquele de que o organismo provém e portanto novas enzimas terão que ser sintetizadas para utilizar novos nutrientes. Durante a fase de

arranque dá-se a replicação do ADN, a massa celular começa a aumentar e finalmente dá-se a divisão celular da bactéria.

O tempo da fase de arranque varia consideravelmente com a condição em que se encontra o microrganismo e a natureza do meio. Esta fase pode ser muito longa se o novo meio for muito diferente do meio de onde as bactérias provêm. Por outro lado, quando se transfere uma cultura jovem em fase de crescimento exponencial para um meio fresco de igual composição a fase de arranque é muito curta ou praticamente inexistente.

### **Fase exponencial de crescimento**

Durante a fase exponencial de crescimento os microrganismos crescem e dividem-se à sua taxa máxima devido ao potencial genético, à natureza do meio e às condições de crescimento. A taxa de crescimento é constante durante a fase exponencial o que significa que os microrganismos se dividem em intervalos regulares de tempo (tempo de geração,  $g$ ) e a biomassa duplica igualmente nesses intervalos de tempo. Durante esta fase existe uma uniformidade populacional em termos de propriedades fisiológicas e bioquímicas. Por este motivo, as culturas em fase exponencial são geralmente usadas em estudos fisiológicos e bioquímicos dos microrganismos.

### **Fase estacionária**

O crescimento populacional cessa e a curva de crescimento torna-se horizontal. Esta fase estacionária é geralmente atingida quando a população bacteriana se aproxima de  $10^9$  células por ml.

O tamanho final da população depende da disponibilidade de nutrientes, assim como de outros factores como seja o tipo de microrganismo em causa. Na fase

estacionária o número total de microrganismos viáveis mantêm-se constante. Isto pode ser o resultado de um equilíbrio entre divisão celular e morte celular, ou simplesmente o facto de a população parar de se dividir embora mantendo-se metabolicamente activa.

### **Fase de morte**

Alterações ambientais como sejam a falta de nutrientes e o aumento de produtos tóxicos provenientes do próprio metabolismo celular conduzem a um declínio no número de células viáveis que é característico da fase de morte.

### **Estudo matemático do crescimento**

Durante a fase exponencial cada microrganismo divide-se em intervalos constantes. Assim a população duplicará num intervalo específico de tempo chamado tempo de geração (g).

### **Cálculo matemático do tempo de geração (g)**

Se um tubo de cultura for inoculado com uma célula que se divide com um tempo de geração de 20 minutos a população será de 2 células ao fim de 20 minutos, 4 células ao fim de 40 minutos, etc. (Tabela 3). Como a população duplica em cada geração, o aumento populacional é dado por  $2^n$ , onde  $n$  é o número de gerações.



Tempo (minutos)	Número de divisões (n)	$2^n$	População ( $N_0 \times 2^n$ )	Log $N_t$
0	0	1	1	0,000
20	1	2	2	0,301
40	2	4	4	0,602
60	3	8	8	0,903
80	4	16	16	1,204
100	5	32	32	1,505
120	6	64	64	1,806

Tabela 3 - Crescimento bacteriano exponencial.

O aumento da população é pois exponencial ou logarítmico. Estas observações podem ser expressas em forma de equação para o cálculo do tempo de geração.

Se:

$N_0$  = Número da população inicial

$N_t$  = Número da população no tempo  $t$

$n$  = Número de gerações no tempo  $t$

$$N_t = N_0 \times 2^n$$

$$\log N_t = \log N_0 + n \log 2$$

O número de gerações  $n$  pode também ser dado por:

$$n = \frac{t}{g}$$

em que,

$t$  = tempo de cultura

$g$  = tempo de geração

A taxa de crescimento num sistema fechado pode ser expressa por meio de uma constante média da taxa de crescimento (K), ou seja o número de gerações por unidade de tempo, muitas vezes expresso em gerações por hora.

$$K = \frac{n}{t} = \frac{\log N_t - \log N_0}{0,301 t}$$

O tempo de geração médio (g) que é o tempo uma população demora em média a duplicar pode ser calculado. Se a população duplicar então  $t = g$  e  $n = 1$ .

$$K = \frac{1}{g} \text{ e consequentemente o tempo de geração é } g = \frac{1}{K}.$$

### **Métodos laboratoriais para medir o crescimento microbiano**

Existem diferentes processos para medir o crescimento microbiano e determinar a taxa de crescimento e o tempo de geração. Quer a massa microbiana quer o número de células podem ser seguidos porque o crescimento conduz a um aumento de ambos.

### **Contagem do número de células viáveis**

Neste caso, o microrganismo é diluído e as diluições são semeadas em meio sólido. Cada microrganismo ou conjunto de microrganismos irá dar uma colónia distinta. O número original de microrganismos na amostra pode ser calculado a partir do número de colónias formado e da diluição feita. Por exemplo, se 1.0 ml de uma diluição  $1 \times 10^{-6}$  deu origem a 150 colónias então a amostra inicial deverá ter  $1.5 \times 10^8$  células por ml. Como muitas vezes não se tem a certeza se foi um só organismo que deu origem à colónia costuma chamar-se unidades formadoras de colónias (CFU) em vez de número de microrganismos.

Alternativamente, também se podem usar filtros que retêm as bactérias e que depois se colocam sobre meio dando origem ao crescimento de colónias. A principal desvantagem é o tempo que demora que pode ir de 18h para bactérias de crescimento rápido a vários dias ou semanas para bactérias ou fungos de crescimento lento.

### **Turbidimetria**

Baseia-se no facto de as células microbianas dispersarem a luz podendo assim serem detectadas. A quantidade de luz detectada é proporcional à concentração de células presentes. Quando a concentração bacteriana atinge 10 milhões de células ( $10^7$ ) por ml o meio aparece ligeiramente turvo. O aumento da concentração conduz ao aumento da turvação e menos luz é transmitida através do meio. A luz detectada pode ser medida num espectofotómetro. É um método rápido e sensível cuja principal desvantagem é não permitir discriminar entre as células vivas e as células mortas.

## **7. *Bacillus subtilis***

Este microorganismo (Fig.7) é um bacilo Gram-positivo, do tipo patogénico oportunista, que possui estruturas que lhe permitem resistir em condições adversas (falta de nutrientes, alterações térmicas, desidratação), denominadas esporos. O *Bacillus subtilis* é um dos responsáveis pelo aparecimento de infecções no ser humano quando sujeito à introdução de um corpo estranho, quer por cirurgia (cateter, prótese, etc.) quer por lesão traumática dos tecidos, ou também em tóxico-dependentes por via intravenosa. Este microorganismo

pode ser o causador de doenças graves tais como: infecções no sistema nervoso central, endocardites, meningites, etc.

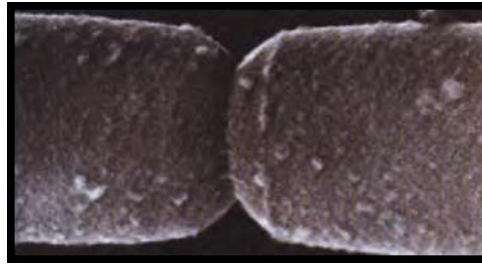


Fig.7 – *Bacillus subtilis*.

Esta forma dita esporulada (Fig.8) que este tipo de organismos desenvolve em condições adversas, são caracterizadas pela apresentação de uma espécie de revestimento proteico. Este revestimento também é sensível aos descontaminantes, acabando por ser destruído nos processos de descontaminação.

Um esporo tem uma estrutura complexa. Generalizando, podemos dizer que estes microorganismos são constituídos por quatro zonas distintas. O protoplasto possui uma parede rodeada pelo córtex. Este é rodeado por revestimento proteico. O córtex é essencialmente constituído por peptidoglicanos. O revestimento é constituído essencialmente por proteínas, possuindo duas camadas: a interna e a externa. A camada interna é muito rica em polipeptídeos ácidos; a camada externa é essencialmente constituída por uma fracção alcalina devido à presença de ligações dissulfídicas. Estas duas camadas que constituem o revestimento proteico e o córtex são as mais relevantes para o desenvolvimento de resistência.



Fig.8 – *Bacillus subtilis* no processo de esporulação.

## **CAPÍTULO 3 – DESCONTAMINAÇÃO TÉRMICA**

### **1. Introdução**

O objectivo deste trabalho é desenvolver uma forma de tratamento inócua e eficaz, de modo a evitar os riscos de infecção, assegurando uma descontaminação elevada e evitar o aparecimento de riscos de doença nos profissionais e para a saúde pública.

O tratamento por processos térmicos é uma das alternativas autorizadas pela legislação portuguesa actual, de acordo com o Decreto-Lei n.º 178/06, de 5 de Setembro.

Com o processo inovador de tratamento que foi desenvolvido neste trabalho, pretende-se a promoção da descontaminação (conceito distinto de desinfecção e esterilização) dos resíduos hospitalares do grupo IV, nomeadamente dos corto-perfurantes.

A criação deste protótipo e a inovação por ele trazida funda-se na aplicação específica de conceitos de descontaminação térmica de resíduos hospitalares contaminados. Deste modo, evita-se a utilização de incineradoras, o transporte a longa distância e a manipulação para os operadores de despejo, permitindo obter como resultados um resíduo capaz de ser tratado como urbano e totalmente adequado a inserir-se num aterro municipal de resíduos urbanos.

### **2. Inactivação Microbiana**

É necessário estabelecer termos e critérios de bom funcionamento que definam quantitativa e qualitativamente o nível de destruição – inactivação – microbiana exigida para qualquer processo de tratamento de resíduos hospitalares. Torna-

se, assim, inevitável estabelecer as diferenças existentes entre os três seguintes conceitos: desinfecção, descontaminação e esterilização.

O termo “**descontaminação**” é definido como sendo uma operação com resultados imediatos, permitindo eliminar, reduzir ou inibir os microorganismos indesejáveis (impedindo, a partir daquele momento a sua continua multiplicação) para níveis seguros de manipulação.

O termo “**desinfecção**” é o processo de destruição de microorganismos, na sua forma vegetativa, não esporulada, para níveis de baixa probabilidade de infecção. A eficácia desta operação é afectada por imensos factores, incluindo a matéria orgânica presente, o tipo e o nível de contaminação microbiológica existente, a temperatura e o pH do meio de desinfecção.

O termo “**esterilização**” é frequentemente definido como uma completa eliminação ou destruição de todas as formas de vida microbiana (vírus, fungos, parasitas e bactérias na forma vegetativa e esporulada).

A aferição da eficácia dos tratamentos alternativos à incineração passa pela quantificação do nível de mortalidade induzido nas populações microbianas, em amostras submetidas à sua acção.

Esta mortalidade microbiana é, por sua vez, aferida pelo método que permite considerar inactivo ou morto o microorganismo, isto é, quando sendo este colocado em condições óptimas para a sua reprodução, esta não se verifique.

A aferição quantitativa das reduções operadas nas populações microbianas é realizada de acordo com escalas previamente definidas, entrando em linha de conta com as resistências das diferentes espécies em presença.

As recomendações da USEPA (1996) definem critérios mínimos aos quais devem obedecer quaisquer tecnologias que se pretendam aplicar neste campo, independentemente da natureza dos agentes de destruição empregues.

A USEPA equacionou a definição e quantificação da inactivação microbiana como “Inactivação  $\text{Log}_{10}$ ”, que se define como a diferença entre o logaritmo do

número de microorganismos de testes viáveis, antes e após o tratamento. A quantificação é, assim, avaliada pelo crescimento ou não crescimento da cultura do indicador biológico.

O critério mínimo de eficácia a obedecer diz respeito à inactivação de bactérias vegetativas, fungos e vírus (lipofílicos e hidrofílicos), parasitas e micobactérias, com uma redução maior ou igual a 6 Log<sub>10</sub> em relação à população inicial, bem como a inactivação em esporos de ***Bacillus Stearotherophilus*** ou ***Bacillus Subtilis***, com redução maior ou igual a 4 Log<sub>10</sub>.

Assim, o critério de “inactivação” surge agregado a uma função probabilística – redução de x Log<sub>10</sub> do número de microorganismos. Este facto resulta da dificuldade, ou mesmo da impossibilidade, de se verificar uma destruição completa, pelo que se prefere definir os níveis alcançados pela redução verificada quanto ao número de microorganismos viáveis presentes.

O conceito de inactivação (ou morte) microbiana, numa logarítmica de dez, pode ser definido como:

$$\text{Inactivação Log}_{10} = \text{Log}_{10} (\text{ncf/g introduzidas}) - \text{Log}_{10} (\text{ncf/g recuperadas})$$

Em que:

- “Inactivação Log<sub>10</sub>” é equivalente ao termo redução Log<sub>10</sub>;
- “ncf/g” refere-se ao número de unidades formadoras de colónias por grama de resíduos sólidos;
- “introduzidas” refere-se ao número de microorganismos viáveis, no teste, introduzidos na unidade de tratamento;
- “recuperadas” refere-se ao número de microorganismos viáveis, no teste, recuperados após tratamento.

Assim, uma redução de 4 Log<sub>10</sub> numa população microbiana significa uma redução na população ao nível das quatro casas decimais (99,99% de redução) ou, por outras palavras, uma probabilidade de sobrevivência na população em causa na ordem dos 0,0001.



Com base no exposto, apresenta-se no quadro 1 o sistema de classificação que define especificamente níveis ou graus de inativação microbiana exigidos para o tratamento de resíduos hospitalares. Para tecnologias de tratamento hospitalares, recomenda-se que seja atingido, pelo menos, o nível 3 destes critérios de eficácia (USEPA, 1996).

Nível de Inativação	Descrição
Nível 1	Inativação de bactérias vegetativas, fungos e vírus lipofílicos com uma redução maior ou igual a 6 Log <sub>10</sub> .
Nível 2	Inativação de bactérias vegetativas, fungos e vírus lipofílicos e hidrofílicos, parasitas e micobactérias com uma redução maior ou igual a 6 Log <sub>10</sub> .
Nível 3	Inativação de bactérias vegetativas, fungos e vírus lipofílicos e hidrofílicos, parasitas e micobactérias com uma redução maior ou igual a 6 Log <sub>10</sub> e inativação de esporos de <i>Bacillus stearothermophilus</i> ou <i>Bacillus subtilis</i> , com uma redução maior ou igual a 4 Log <sub>10</sub> .
Nível 4	Inativação de bactérias vegetativas, fungos e vírus lipofílicos e hidrofílicos, parasitas e micobactérias e inativação de esporos de <i>Bacillus stearothermophilus</i> ou <i>Bacillus subtilis</i> , com uma redução maior ou igual a 6 Log <sub>10</sub> .

Tabela 4 – Níveis de inativação microbiana exigidos para o tratamento de resíduos hospitalares.

Ressalta, da análise da tabela anterior, a recomendação de utilização de indicadores biológicos para a avaliação da eficácia das tecnologias de tratamento de resíduos hospitalares, nomeadamente o recurso aos esporos de

***Bacillus stearothermophilus*** ou ***Bacillus subtilis*** como indicadores biológicos dos esporos.

Esta opção baseou-se em vários estudos comparativos fornecidos pela USEPA, que indicavam estes esporos como os indicadores biológicos mais resistentes química e termicamente.

### 3. Calor Seco

A esterilização por calor é o método de esterilização mais recomendado para o controlo de contaminação em produtos relacionados com a saúde humana, uma vez que engloba uma série de vantagens, se comparado a outros métodos tais como velocidade, compatibilidade, uso de agentes de esterilização seguros e abundantes (neste caso o ar), uma mais fácil monitorização e validação, etc.

As principais publicações normativas e orientadoras colocam a esterilização por calor como primeira escolha, sempre que aplicável.

O calor não é somente o agente de esterilização mais usado como também o mais económico e o mais fácil de controlar. Este processo causa a destruição dos microrganismos fundamentalmente por um processo de oxidação, ocorrendo uma desidratação progressiva do núcleo das células.

A acção letal do calor é uma relação tempo - temperatura, dependente de factores que definem a intensidade do tratamento e do tempo de exposição ao calor para reduzir a população microbiana a níveis estabelecidos.

Sendo os esporos bacterianos altamente resistentes às condições ambientais adversas, eles são usados como indicadores biológicos na avaliação do nível de inactivação microbiana atingido e de possíveis falhas operacionais, como já tinha sido referido no capítulo anterior.

O *Bacillus subtilis*, graças à sua alta resistência térmica é considerado um vantajoso indicador biológico na descontaminação por calor seco.

#### 4. Polipropileno

As embalagens dos resíduos hospitalares de corto-perfurantes são na sua maioria de polipropileno.

O polipropileno é um dos plásticos mais comercializados, visto ser um dos mais baratos, uma vez que pode ser sintetizado a partir de matérias-primas petroquímicas baratas.

Ao passar do polietileno para o polipropileno, a substituição de cada um de dois átomos de carbono da cadeia polimérica principal por um grupo metilo, restringe a rotação das cadeias, originando um material mais resistente mecanicamente, mas menos flexível. Os grupos de metilo também provocam um aumento da temperatura de transição vítrea, pelo que o polipropileno tem uma temperatura de amolecimento e uma temperatura de deflexão superiores às do polietileno.

O polipropileno apresenta resistência limitada ao calor, sendo que a sua temperatura de amolecimento se encontra no intervalo 165° a 177°C.

O polipropileno possui um conjunto de propriedades atractivas onde se incluem: a boa resistência química, a baixa absorção de humidade, a boa resistência ao impacto, a boa estabilidade térmica e o baixo custo dentre os plásticos (Smith William).

## CAPÍTULO 4 – DESCONTAMINAÇÃO QUÍMICA

### 1. Introdução

Como já foi referido no capítulo anterior, o objectivo deste trabalho é desenvolver uma forma de tratamento inócua e eficaz, de modo a evitar os riscos de infecção e assegurar uma descontaminação elevada.

O tratamento dos resíduos desenvolve-se não só por processos térmicos, como já tinha sido referido, mas também por descontaminação química como previsto na legislação portuguesa, de acordo com o Decreto-Lei n.º 178/06, de 5 de Setembro.

### 2. Hipoclorito de Sódio

O hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}$ ), vulgarmente conhecido por lixívia, foi a substância escolhida para efectuar a descontaminação química do ar que circula dentro do protótipo, garantindo assim a ausência de bactérias, vírus ou fungos nocivos para a saúde, nomeadamente no início do processo.

A escolha deste produto deve-se a vários factores:

- o  $\text{NaClO}$  é de baixo custo;
- o  $\text{NaClO}$  foi reconhecido pelo Instituto Pasteur como sendo dos desinfectantes mais eficazes na destruição de bactérias, vírus e fungos patogénicos;
- o  $\text{NaClO}$  é um dos desinfectantes eleitos pelas unidades hospitalares para a sua própria limpeza (solos, bancadas, espaços, etc.) uma vez que quebra as cadeias de gorduras, proteínas e carboidratos em pequenas porções facilitando esta mesma limpeza, bem como a desinfecção e a

lavagem de roupas provenientes da actividade laboral dos funcionários e dos próprios doentes;

- o uso desta substância está largamente difundido na desinfecção de seringas para a administração de drogas de forma a reduzir o risco de contaminação do vírus da SIDA;
- é caracterizado por ter propriedades de um “desinfectante ideal”, uma vês que é classificado como sendo um antimicrobiano de largo espectro de acção bactericida rápida, toxicidade quase nula para os humanos quando usado em concentrações normais, e não é inflamável;
- desinfecção de equipamento dentário de forma a prevenir a transmissão cruzada entre pacientes e pessoal de saúde, assim como desinfecção do canal da raiz;
- o uso desta substância está largamente difundido no tratamento de águas potáveis e águas das piscinas;
- o NaClO é efectivo na eliminação de todos os microorganismos que são característicos nas queimaduras dos doentes queimados.

## **CAPÍTULO 5 – DESENVOLVIMENTO DO PROTÓTIPO EXPERIMENTAL**

### **1. Introdução**

Os corto-perfurantes devem ser recolhidos na origem, em contentores à prova de perfuração (plástico de alta densidade), com tampas ajustadas. Os contentores devem ser rígidos, impermeáveis e à prova de perfuração. A fim de evitar manipulações indevidas, os recipientes devem ser herméticos (isto é difíceis de abrir ou partir).

Os materiais cortantes estão na sua maioria contaminados com sangue, o que faz deles resíduos que constituem claramente um risco de transmissão de doença.

### **2. Protótipo Experimental**

Os resíduos hospitalares classificados no grupo IV (os que se destinam a incineração) podem ser substancialmente reduzidos se os objectos corto-perfurantes forem tratados de forma alternativa. Torna-se mais económico porque não requer a presença de profissionais especializados no tratamento, além de ser menos poluente.

O protótipo construído (Fig.9) representa um sistema alternativo ao tratamento de resíduos hospitalares do grupo IV, mais concretamente os corto-perfurantes. É constituído por um forno convencional de ar quente com sistema de ventilação “turbo” e por algumas adaptações para um melhor funcionamento do mesmo.

A figura 10 representa um desenho esquemático do protótipo ilustrado na figura 9.

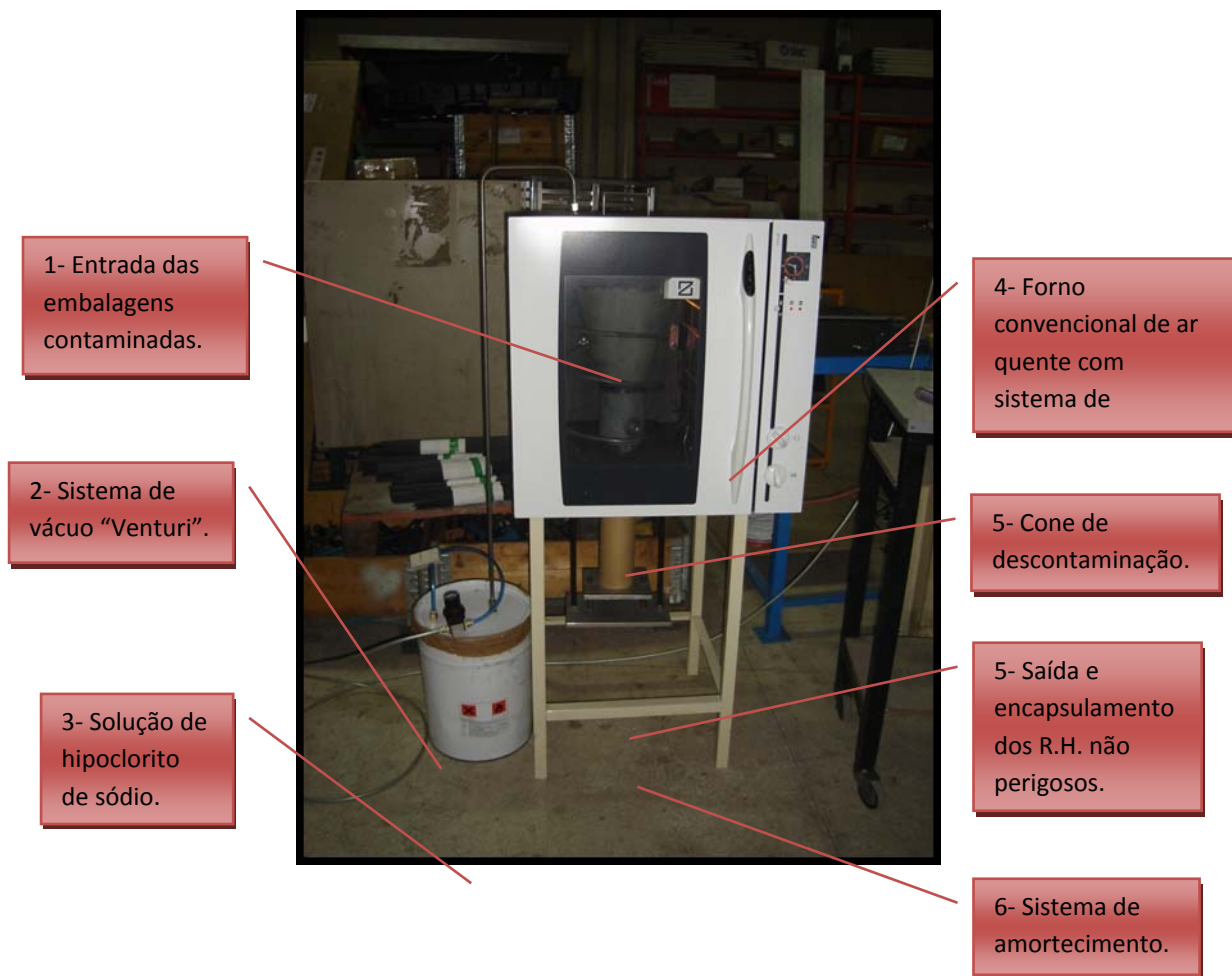


Fig.9 – Protótipo experimental.

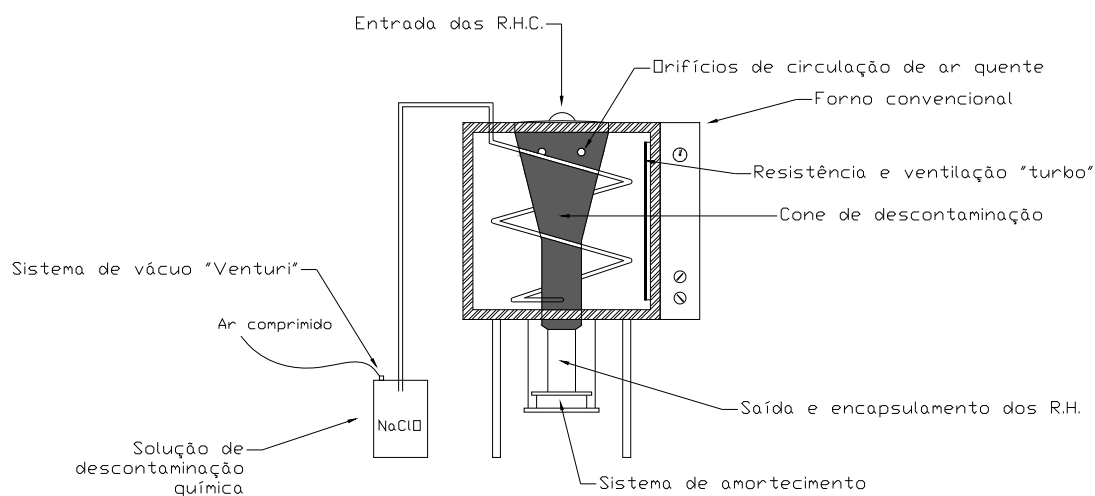


Fig.10 – Desenho esquemático do protótipo experimental.

### 3. Funcionamento do Protótipo Experimental

O objectivo do protótipo é conseguir transformar resíduos hospitalares perigosos em resíduos equiparados a urbanos (RSU). Tornam-se assim seguros, após a remoção do potencial infeccioso, para qualquer pessoa que entre em contacto com eles. Podendo posteriormente sofrer os tratamentos dos RSU (tratamento por incineração ou deposição em aterro sanitário).

As embalagens com resíduos hospitalares corto-perfurantes contaminados são colocadas na entrada do protótipo, previamente aquecido a 250°C, onde se inicia a descontaminação térmica por calor seco (Fig.11).





Fig.11 – Embalagem colocada no cone de descontaminação.

Entretanto, as embalagens estão a ser descontaminadas pelo calor uniforme que circula no cone de descontaminação devido às aberturas nele existentes e ao sistema de ventilação “turbo” que o forno possui (Fig.12).



Fig.12 – Cone de descontaminação.

As embalagens derretidas, descontaminadas e que rodeiam os resíduos que contêm, estão a ser sugadas para a saída do protótipo, devido ao sistema de vácuo “Venturi” (ligado ao sistema de ar comprimido da empresa), onde são encapsuladas por um cone de cartão que se encontra sob um sistema de amortecimento (Fig.13).



Fig.13 – Sistema de amortecimento com o cilindro de recolha e encapsulamento dos resíduos.

Por fim, a solução de hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}$ ) faz uma descontaminação do ar que circula no protótipo, por uma questão de prevenção máxima de inexistência de qualquer risco para a saúde.



Fig.14 – Solução de hipoclorito de sódio e o sistema de vácuo “Venturi”.

O fluxograma da figura 15 representa as etapas principais do tratamento efectuado pelo protótipo.

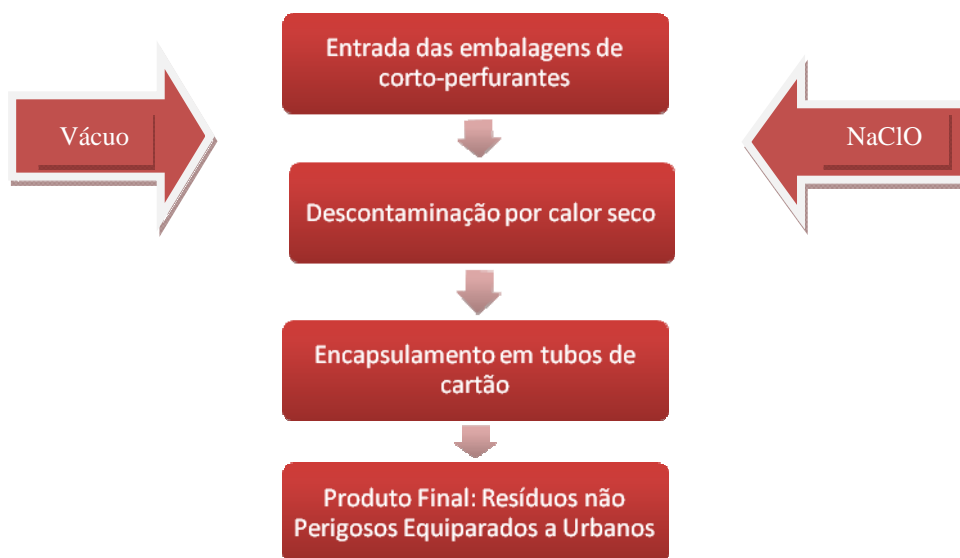


Fig.15 – Fluxograma representativo do funcionamento do protótipo experimental.

## CAPÍTULO 6 – MÉTODO EXPERIMENTAL

### 1. Introdução

Esta pesquisa estudou as condições necessárias para fundir as embalagens de polipropileno e encapsular os materiais corto-perfurantes de modo a impedir a sua reutilização, reduzir o volume destes resíduos, além de oferecer um método alternativo à incineração.

O método experimental, após o engenho se encontrar operacional, passou pela execução do perfil térmico do protótipo e pela realização de ensaios microbiológicos com a utilização do indicador biológico indicado para este trabalho.

### 2. Equipamento

As seringas de polipropileno utilizadas (PIC Indolor) de fabricação da Artsana (Itália) com capacidade de 2,5 e 5ml. As agulhas também são fabricadas pela mesma marca, no calibre 21 (21G1), do tipo “slip-tip” (ponta de encaixe deslizante) (Fig.16).



Fig.16 – Exemplo da carga a ensaiar.

Para fundir as seringas foi usado um forno de ar quente com um sistema de ventilação “turbo” modelo HT 610 da marca TEKA. Foi utilizado um termopar ligado a um multímetro da marca Kaise modelo My-64, para monitorizar a temperatura obtida dentro do protótipo e na amostra que estava a ser fundida. Nos ensaios preliminares utilizaram-se caixas de polipropileno de uso doméstico (Fig.17).



Fig.17 – Caixas de uso doméstico.

Os contentores de corto-perfurantes são, também, de polipropileno, possuem uma capacidade de 2l e são fabricados pela Medical Express.



Fig.18 – Embalagens corto-perfurantes da “Medical Express”.

Os tubos de cartão são da Cartangola e possuem um diâmetro de 80mm.

### **3. Perfil Térmico**

Para a realização do perfil térmico do protótipo foi feita uma monitorização da temperatura das embalagens em função do tempo a fim de garantir a fusão completa do material plástico e a total descontaminação da massa de material.

Este método foi realizado para ambas as situações, com carga e sem carga:

- 1) Regular a temperatura para 250°C.
- 2) Ligar o sistema de ventilação do forno.
- 3) Ligar o sistema de vácuo.
- 4) Fechar a entrada das embalagens contaminadas.
- 5) Esperar 5 minutos para que o forno atinja a temperatura desejada.
- 6) Colocar um termopar no centro do cone de descontaminação.
- 7) Fazer uma monitorização da temperatura em vários pontos da parede do cone de descontaminação.
- 8) Fazer uma monitorização da temperatura em vários pontos fora do cone de descontaminação, mas dentro do forno.
- 9) Colocar a caixa fechada dentro do cone de descontaminação.
- 10) Fazer uma monitorização da temperatura em vários pontos da caixa.
- 11) Repetir o processo as vezes necessárias.

### **4. Ensaios Preliminares**

Inicialmente fizeram-se ensaios preliminares ao protótipo para testar as suas capacidades, nomeadamente à temperatura, ao vácuo e ao próprio engenho (para investigar se necessitava de aperfeiçoamentos).

Os ensaios preliminares foram realizados com 20 caixas de plástico de uso doméstico, de constituição idêntica às usadas na recolha de agulhas hospitalares.

## **5. Ensaios com Embalagens Corto-perfurantes**

Após algumas semanas de procura de embalagens para corto-perfurantes, junto de algumas instituições de fornecimento das mesmas, optou-se pela compra das embalagens a uma empresa do norte do país.

Realizaram-se novos testes para estudar a densificação do material, as propriedades gerais de fusão e a capacidade de encapsulamento das embalagens. Além disso foi, calculada a redução de volume verificada.

Neste estudo, foram utilizadas 20 caixas com capacidade de 2 litros cada. Sendo que 10 destas caixas foram ensaiadas vazias e as restantes com carga (seringas e agulhas) a 70% de volume, devido a não ser recomendado o enchimento da mesma.

O procedimento utilizado para os ensaios preliminares e para os testes com as embalagens de corto-perfurantes foi o seguinte:

- 1) Regular a temperatura para 250°C.
- 2) Ligar o sistema de ventilação do forno.
- 3) Ligar o sistema de vácuo.
- 4) Fechar a entrada das embalagens contaminadas.
- 5) Esperar 5 minutos para que o forno atinja a temperatura desejada.
- 6) Colocar a carga dentro da caixa e fechar a tampa da mesma (este passo só é realizado nas restantes 15 caixas).
- 7) Colocar a caixa fechada dentro do cone de descontaminação.
- 8) Aquecer a caixa 12 minutos.
- 9) Colocar uma nova caixa e repetir o processo do passo 7 em diante.

- 10) Retirar o cilindro de cartão que contém o material encapsulado, após a colocação no protótipo de 3 caixas.

## 6. Ensaio Microbiológicos

Inicialmente e para afinação de alguns processos escolheu-se a cultura de *Escherichia coli*, visto ser vulgarmente utilizada nos laboratórios de microbiologia, para a realização de testes de cultivo e crescimento de microorganismos.

### Ensaio com o indicador biológico

Os testes microbiológicos efectuados no protótipo foram todos eles realizados com culturas de esporos de *Bacillus subtilis*, uma vez que esta estirpe é considerada um óptimo indicador biológico para descontaminação por calor seco, como já foi referido anteriormente.

Inicialmente utilizou-se um indicador biológico, que não seria o definitivo, denominado “Esporofar Bioindicador” para calor seco (Fig.19) com o objectivo de acompanhar o grau de esterilização obtido pela carga submetida ao processo de descontaminação por calor seco, tendo como indicador um organismo vivo de alta resistência térmica (esporos de *Bacillus subtilis*).

Os esporos bacterianos deste produto são obtidos através do crescimento em meio de cultivo apropriado, e após, diluídos e contados, são incorporados a fitas (6x25mm) de papel de filtro. As linhagens do organismo usado na obtenção de bioindicadores são derivadas do ATCC (American Type Culture Collection - USA). As especificações do organismo utilizado como bioindicador em processos de esterilização por calor seco são as seguintes:

<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 9372	Processo de Esterilização	Tempo necessário à esterilização
---------------------------------------	------------------------------	--



<b>35-37°C - Até 7 dias de incubação</b>	Calor seco a 121°C	60 minutos
	Calor seco a 170°C	1 minuto

Tabela 5 – Especificações do “Esporofar Bioindicador”.

Na tabela acima é possível identificar o tipo de *Bacillus* presente no indicador biológico, o tempo mínimo que a estirpe em causa deve permanecer no protótipo para que haja esterilização, a duas temperaturas diferentes. E por fim, o tempo que é necessário incubar o microorganismo para verificar se ocorreu efectivamente o processo de esterilização ou não.

O kit de esterilização é composto por:

- 1 frasco com 3mL de meio de cultivo em caldo com indicador púrpura de bromocresol.
- 1 frasco contendo uma fita de papel de filtro impregnada na concentração de  $10^6$  esporos.
- 1 seringa plástica estéril descartável de 3mL.

Para validação do ciclo de esterilização, posicionou-se 1 frasco contendo a fita de papel de filtro em cada canto do cone de descontaminação do protótipo e 1 frasco no meio da carga a ser esterilizada.



Fig.19 – “Esporofar Bioindicador” para calor seco colocado num tubo de ensaio.

Contudo, e por questões que serão referidas mais à frente, foi necessário procurar uma nova apresentação do indicador biológico em questão.

O indicador biológico definitivo é proveniente da DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) com o número 347 (utilizado em testes de esterilização) e a sua espécie é ***Bacillus subtilis***, subespécie ***spizizenni*** Nakamura et al. 1999.

Os procedimentos realizados para a obtenção do microorganismo em condições passíveis de utilização no protótipo estão descritos no anexo A, apresentando-se de seguida, apenas o procedimento original adaptado ao estudo em causa.

### Meio Líquido

- 1- Mergulhou-se a ansa de platina esterilizada na cultura bacteriana que tinha sido hidratada anteriormente.
- 2- Mergulhou-se a alça carregada de bactérias no tubo com o meio de cultivo e agitou-se a mesma, para que as bactérias se soltassem no novo meio.
- 3- Efectuaram-se as diluições necessárias pelo processo descrito anteriormente.
- 4- Inseriram-se os frascos que continham o microorganismo no cone de descontaminação do protótipo, após a realização de todos os procedimentos atrás referidos para que o protótipo se encontre em plena actividade.
- 5- Repetiu-se o processo as vezes necessárias para realizar o número de ensaios pretendidos.

### Meio Sólido

- 1- Mergulhou-se a ansa de platina esterilizada na cultura bacteriana vinda do protótipo.
- 2- Fez-se estrias utilizando da melhor forma possível toda a superfície da placa.
- 3- Levou-se a incubar durante 48h.

- 4- Verificou-se a existência ou não de crescimento microbiano.
- 5- Repetiu-se o processo as vezes necessárias para realizar os ensaios no protótipo.

## CAPÍTULO 7 – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 1. Introdução

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos durante este trabalho de investigação experimental, nomeadamente no que diz respeito ao perfil térmico desenvolvido pelo protótipo e aos resultados obtidos na descontaminação de resíduos corto-perfurantes e da sua inactivação microbiana.

Todos os ensaios no engenho a seguir referidos foram realizados a uma temperatura de 250°C e a uma pressão de vácuo de 1bar.

### 2. Perfil Térmico

Para a obtenção do perfil térmico do protótipo colocou-se um termopar ligado a um multímetro, para registo da temperatura, em diferentes locais dentro do cone de descontaminação (Fig.20).

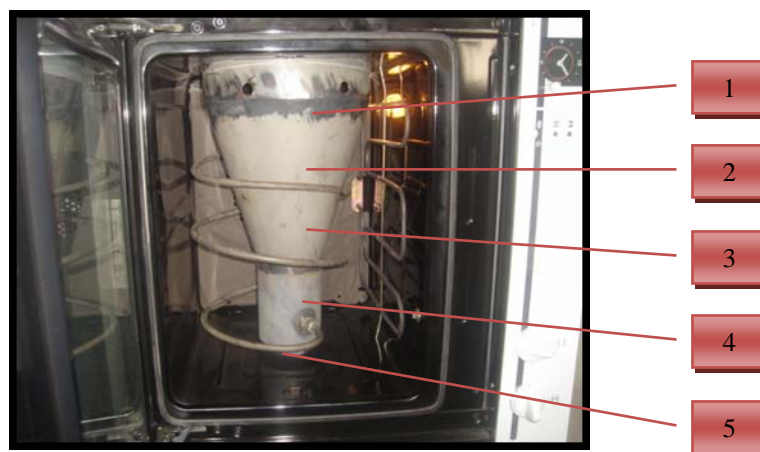


Fig.20 – Locais de monitorização da temperatura no cone de descontaminação.

Local	Temperatura (°C)
1	170°
2	185°
3	189°
4	192°
5	196°

Tabela 6 – Temperaturas registadas no cone de descontaminação nos ensaios sem carga.

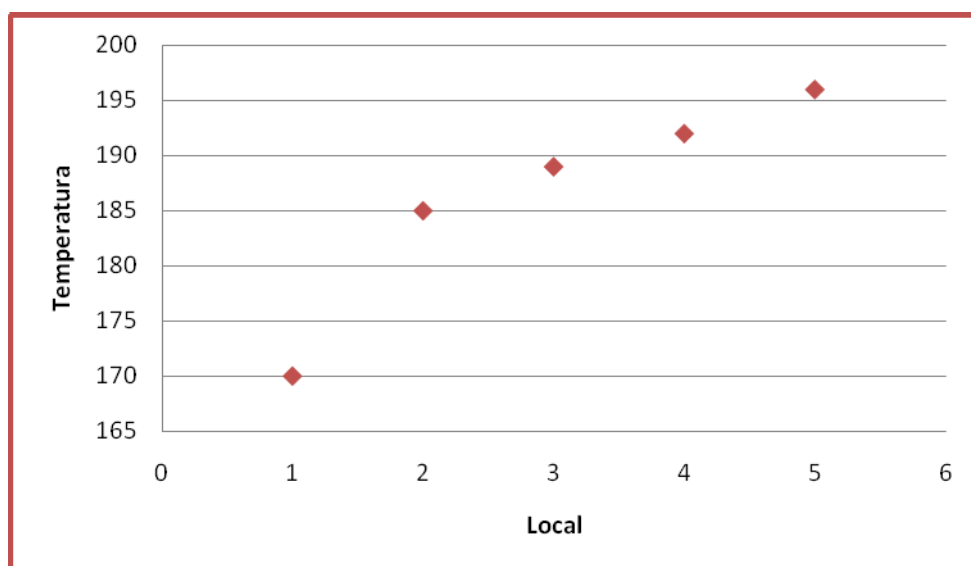


Gráfico 1 – Temperaturas registadas em diferentes locais do cone de descontaminação sem carga.

Local (dentro da embalagem)	Temperatura (°C)
1	160°
2	178°
3	184°
4	189°
5	192°

Tabela 7 – Temperaturas registadas no cone de descontaminação nos ensaios com carga.

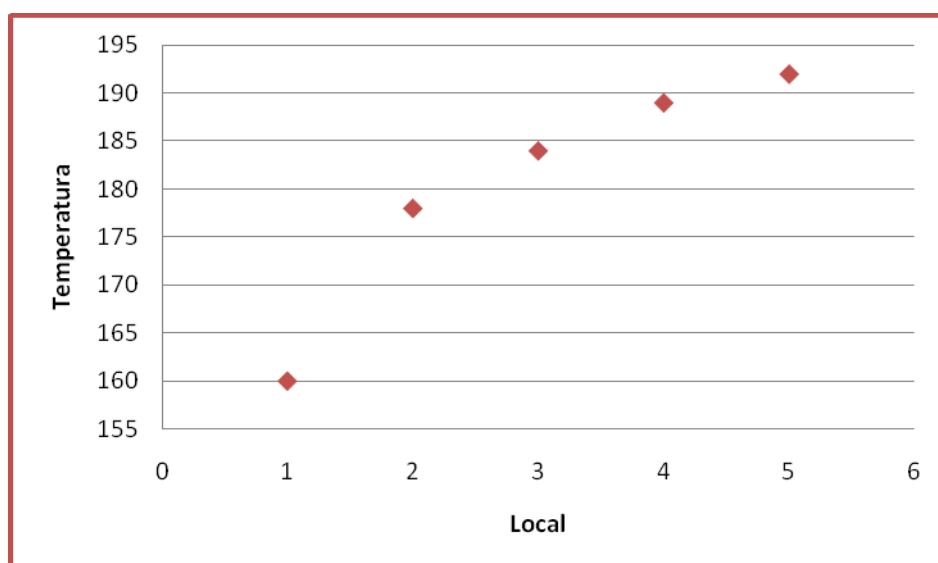


Gráfico 2 – Temperaturas registadas em diferentes locais do cone de descontaminação com carga.

Observou-se uma ligeira descida de temperaturas no que concerne ao perfil térmico com carga comparativamente ao sem carga, o que é natural visto que há absorção de maior quantidade de calor pela carga. Devido ao ponto de fusão do polipropileno ser aproximadamente 171°C, as temperaturas registadas são suficientemente altas (uma média de 181° com carga) para assegurar a fusão completa e a descontaminação total dos resíduos hospitalares a serem tratados.

### 3. Ensaios Preliminares

Os tempos que as primeiras 20 caixas de plástico com capacidade de 1l, de uso doméstico, demoram a fundir encontram-se descritos na tabela 8.

Caixa	Tempo (minutos)
1	11
2	9
3	7
4	5
5	5
6	4
7	4
8	4
9	4
10	4
11	4
12	4
13	4
14	4
15	4
16	4
17	4
18	4
19	4
20	4

Tabela 8 – Tempos de fusão das caixas de uso doméstico.

Pela análise da tabela acima, pode verificar-se que as primeiras 3 caixas demoraram mais tempo a fundir do que as restantes. Isto deve-se com certeza ao facto de o forno não se encontrar suficientemente quente na altura de colocação das primeiras caixas, pois se observarmos os tempos da fusão das caixas seguintes verifica-se que diminuem, estagnando para um tempo de 4 minutos (o que é evidente na observação do gráfico 3). Este valor de tempo é

baixo devido ao material de constituição da caixa, que apesar de ser polipropileno deverá ser de qualidade mais fraca.

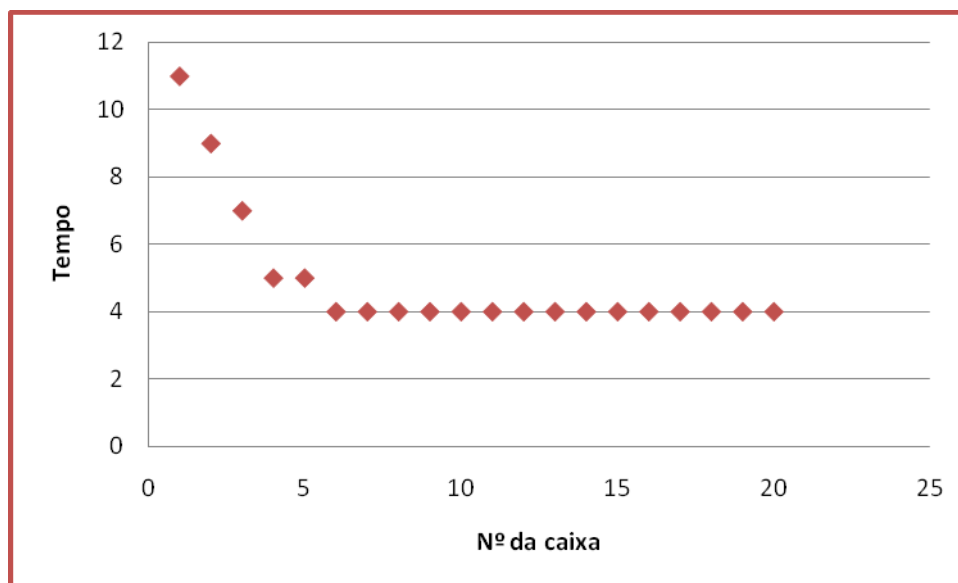


Gráfico 3 – Tempos de fusão das caixas de uso doméstico.

#### 4. Ensaios com Embalagens Corto-perfurantes

Para a realização destes ensaios foram empregues 20 contentores de resíduos hospitalares do grupo IV corto-perfurantes com capacidade de 2l e um peso de 90g. As primeiras 10 caixas foram utilizadas para definir o tempo de fusão sem carga (tabela 9). As 10 seguintes serviram para descrever a temperatura de fusão das embalagens agora com carga (tabela 11). Nos ensaios de carga utilizaram-se conjuntos (seringa e agulha) de volumetrias diferentes, como referido anteriormente. Utilizaram-se, em cada embalagem com carga, 10 conjuntos de 2,5ml e quatro conjuntos de 5ml, cujo peso é de 4g e 7g respectivamente.



Caixa	Tempo (minutos)
1	9
2	8
3	8
4	8
5	8
6	8
7	8
8	8
9	8
10	8

Tabela 9 – Tempos de fusão das embalagens vazias de corto-perfurantes.

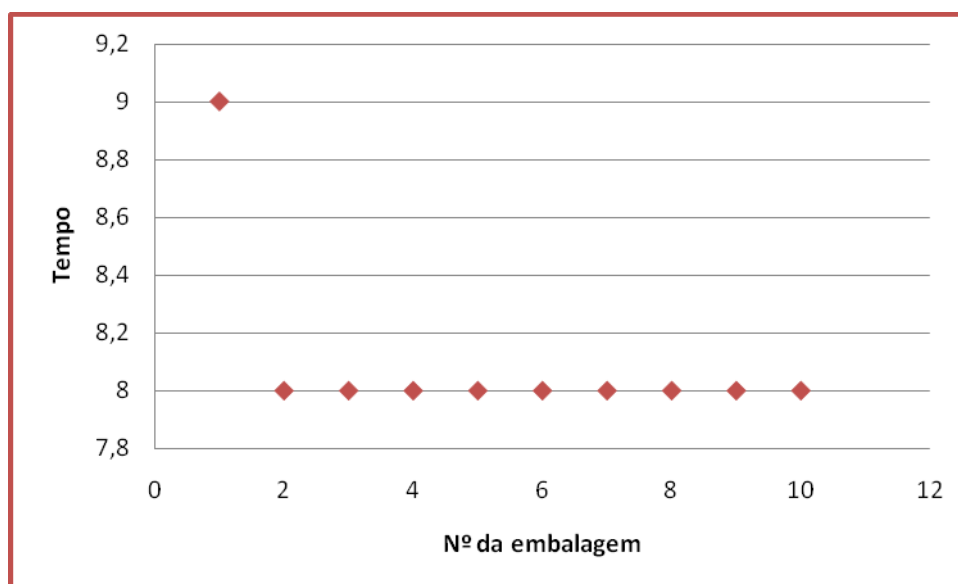


Gráfico 4 – Tempos de fusão das embalagens corto-perfurantes vazias.

Pela observação do gráfico anterior pode verificar-se que as embalagens fundem num período de aproximadamente 8 minutos, depois de estabilizada a temperatura do forno.

Um dos problemas que surge no processamento destas embalagens é o volume por elas ocupado, este estudo permite uma redução significativa do volume do acondicionamento deste tipo de resíduos (tabela 10).

Ensaio (embalagem vazia)	Volume antes da fusão (litros)	Volume após a fusão (dm <sup>3</sup> )	Redução de volume (%)
1	2	0,31	84,5
2	2	0,34	83
3	2	0,36	82
4	2	0,33	83,5
5	2	0,39	81,5
6	2	0,37	84
7	2	0,32	84,5
8	2	0,31	82
9	2	0,36	83,5
10	2	0,33	83,5
<b>Redução média de volume</b>			<b>82,9 %</b>

Tabela 10 – Redução de volume total nos ensaios sem carga.

Caixa	Tempo (minutos)
1	14
2	14
3	14
4	14
5	14
6	14
7	14
8	16
9	16
10	16

Tabela 11 – Tempos de fusão das embalagens corto-perfurantes com carga.

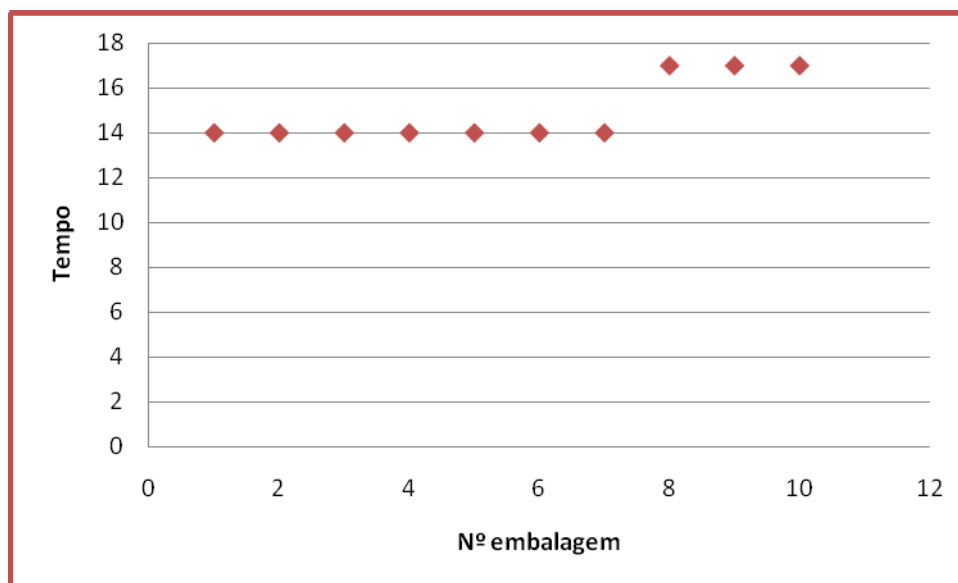


Gráfico 5 – Tempos de fusão das embalagens corto-perfurantes com carga.

Ensaio (embalagem com 68g de carga)	Volume antes da fusão (litros)	Volume após a fusão (dm <sup>3</sup> )	Redução de volume (%)
1	2	0,61	69,5
2	2	0,63	68,5
3	2	0,62	69
4	2	0,63	68,5
5	2	0,61	69,5
6	2	0,64	68
7	2	0,64	68
8	2	0,62	69
9	2	0,63	68,5
10	2	0,62	69
<b>Redução média de volume</b>			<b>68,75 %</b>

Tabela 12 – Redução de volume total nos ensaios com carga.

Pela análise da tabela e do gráfico relativo aos ensaios com carga é perceptível que os tempos de fusão aumentaram em relação aos obtidos anteriormente, o que é normal uma vez que a carga a fundir também aumentou. Após uma média de 14 minutos no protótipo a 250°C, a carga (seringas e agulhas) encontrava-se completamente derretida e adaptava-se muito bem ao desenho do cilindro de encapsulamento. Nestes testes as agulhas ficaram completamente encapsuladas pelo plástico derretido da embalagem de corto-perfurantes

(Fig.21). Contudo, e caso isso não se verificasse estas ficariam igualmente protegidas pelo encapsulamento final do tubo de cartão (Fig.22).



Fig.21 – Embalagem com carga em fusão no cone de descontaminação.



Fig.22 – Tubo de cartão a encapsular a embalagem fundida com carga.

Nas últimas três embalagens foram introduzidos 0,5ml de água em quatro seringas para simular os fluidos remanescentes. A expectativa era de que o fluído entrasse em ebulição e evaporasse, deixando o produto final em estado

idêntico ao das fusões anteriores, embora se previsse um tempo mais longo. O que acabou por se verificar para um tempo de 17 minutos, devido à presença da água que aumentou o consumo de energia necessário. Os aglomerados de plástico resultantes tinham a mesma aparência e dimensões similares aos obtidos nos testes anteriores, evidenciando que os 2ml de fluído se evaporaram totalmente. Por conseguinte, qualquer fluído remanescente nos resíduos cortopercutantes não deve inibir o ciclo de descontaminação.

A redução de volume verificada foi outro valor que diminuiu nestes ensaios, o que era espectável porque como já foi referido a carga aumentou, sendo óbvio que a redução total de volume teria que diminuir. Esta diminuição não é significativa e a redução total continua a ser bastante expressiva (68,75%), aproximadamente 69%.

## 5. Ensaios Microbiológicos

De seguida descrevem-se os resultados obtidos nos ensaios com a estirpe de *Escherichia coli*, que apesar de não ter sido utilizada como indicador biológico nos ensaios finais por todo o exposto anteriormente, contribuíram para o progresso do projecto na fase inicial.

### Contagem pelo método turbidimétrico

Densidade óptica da amostra =  $1.105 \times 2$

Cálculo do volume a usar para inocular o meio fresco:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$1.105 \times 2 \times V_1 = 0.05 \times 50$$

$$V_1 = 1.131 \text{ml}$$

Tempo	Absorvância
0	0.06
15	0.048
30	0.065
45	0.091
60	0.100
75	0.132

Tabela 13 – Valores das absorvâncias.

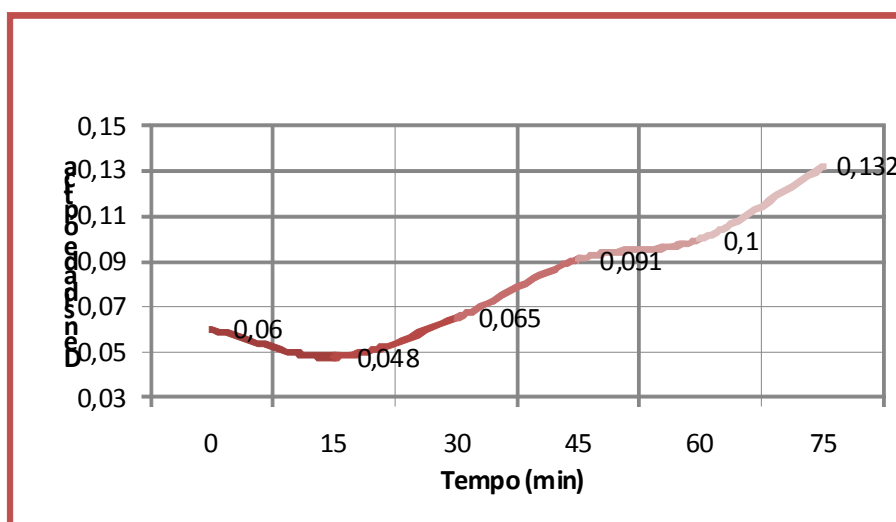


Gráfico 6 – Crescimento pelo método turbidimétrico.

O método turbidimétrico permite obter resultados mais rápidos, mas tem como principais desvantagens o facto de não distinguir as células vivas das mortas (como foi referido em cima); não distinguir partículas em suspensão de células; e apenas ser utilizado quando as condições de crescimento forem as mesmas.

### Contagem pelo método das células viáveis

Densidade óptica da Escherichia coli =  $0.666 \times 10$

Cálculo do volume a usar para inocular o meio fresco:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$100 \times 0.05 = 6.66 \times V_2$$

$$V_2 = 0.750 \text{ ml}$$

Tempo	Diluição	Nº de células	Média de células duplicadas	Nº de organismos / ml
0	$10^{-6}$	0		
30	$10^{-6}$	64 55	60	$6,0 \times 10^7$
60	$10^{-6}$	51 56	54	$5,4 \times 10^7$
90	$10^{-6}$	90 81	86	$8,6 \times 10^7$

Tabela 14 – Contagem de microorganismos.

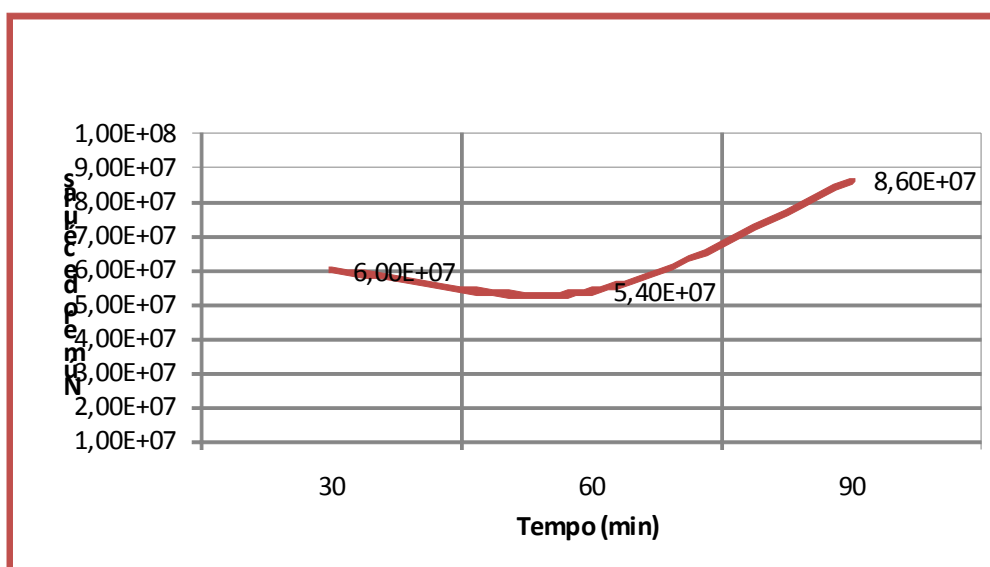


Gráfico 7 – Crescimento pelo método das células viáveis.

$$\text{Taxa de crescimento} = \frac{8.6 * 10^7 - 5.4 * 10^7}{90 - 30} = 5.333 * 10^5 \text{ células / minuto}$$

$$\text{Tempo de geração} = \frac{1}{5.333 * 10^5} = 1.875 \text{ minutos / célula}$$

No método das células viáveis o número original de microrganismos na amostra pode ser calculado a partir do número de colónias formado e da diluição feita. Por exemplo, ao fim de 30min, tinha-se 1.0ml de uma diluição  $1 \times 10^{-6}$  que deu origem a 60 colónias, então a amostra inicial deveria ter  $6,0 \times 10^7$  células por ml. Em ambos os métodos existe uma ligeira queda inicial no crescimento das bactérias, que se deve à adaptação ao meio por parte destas. Ambos os métodos demonstraram ser robustos para a contagem de bactérias, embora o método turbidimétrico seja mais explícito. Isto deve-se ao facto de este método não distinguir as células vivas das mortas.

### **“Esporofar Bioindicador”**

Como já foi referido anteriormente, o indicador biológico utilizado para testar a eficácia operada pelo protótipo na descontaminação dos resíduos hospitalares foi o “Esporofar Bioindicador” para calor seco, cujos resultados se expõem na tabela 14.

Inicialmente o indicador biológico foi inserido exactamente como é comercializado, contudo devido às elevadas temperaturas que se fazem sentir dentro do engenho, este derreteu. Foi, então necessário proceder às seguintes tentativas de protecção do indicador biológico para que este se mantivesse intacto, enquanto se encontrava inserido no protótipo. Para isso, colocou-se dentro de uma ampola de vidro e a última tentativa foi a colocação deste dentro de um tubo de ensaio.



Protecção do indicador biológico	Tempo necessário para haver dano (minutos)
Sem protecção	1,5
Dentro de ampola de vidro	2
Dentro de tubo de ensaio	3

Tabela 15 – Tempo de deterioração do “Esporofar Bioindicador”.

Como se pode observar pela tabela anterior os resultados obtidos com este indicador biológico não são de todo viáveis para retirar conclusões sobre o processo de descontaminação do engenho. Ao fim de 3 minutos dentro de um tubo de ensaio, o bioindicador encontrava-se completamente derretido não sendo possível o seu cultivo para o estudo de crescimento bacteriano. Após a execução de vários ensaios com este indicador verificou-se que a ampola não possuía resistência térmica para aguentar temperaturas acima dos 180°.

### Indicador Biológico Final

O “indicador biológico” final veio da Alemanha e necessitou de ser inoculado em meio líquido para poder ser inserido no protótipo, uma vez que este era apenas uma estirpe de *Bacillus subtilis* e não um indicador biológico já preparado para testes de esterilização como o anterior.

Os esporos de *Bacillus subtilis* em meio líquido e dentro de um frasco de vidro, foram colocados no cone de descontaminação dentro da embalagem de R.H. com carga. Posteriormente, foram retirados e inoculados em meio sólido, deixando-se estar 48h a incubar, para determinar se houve ou não inactivação microbiana (tabela 16).

Tempo de permanência no cone (minutos)	Resultado	Número de UFC		
		Testemunho 1	Testemunho 2	Testemunho 3
3	Positivo	30	28	29
6	Positivo	6	5	6
9	Positivo	1	2	1
12	Negativo	0	0	0

Tabela 16 – Tempo necessário para ocorrer inactivação microbiana.

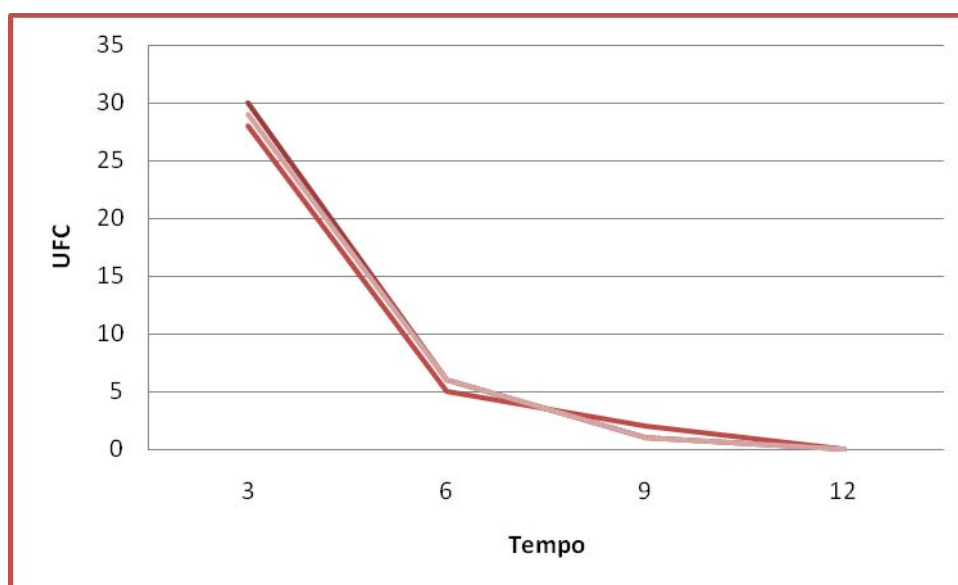


Gráfico 8 – Tempos e inactivação microbiana.

Os resultados obtidos neste ensaio são a evidência necessária para afirmar a competência do protótipo em causa para a descontaminação deste tipo de resíduos.

Após 3 minutos de descontaminação, nos três ensaios efectuados, era ainda evidente o crescimento microbiano (uma média de 29 colónias). Com o

aumento do tempo de estadia no cone de descontaminação verificou-se uma diminuição significativa no número de colónias, como se pode ver na tabela 15. Para um tempo de 9 minutos dentro protótipo, o crescimento microbiano é quase nulo. Tornando-se efectivamente inexistente a partir dos 12 minutos de permanência no engenho.

A colocação do microorganismo dentro de um tubo de vidro torna a operação de inactivação microbiana mais difícil, uma vez que o vidro é uma barreira à transmissão de calor. No caso dos R.H.C reais, os agentes patogénicos estão directamente em contacto com a embalagem de recolha dos corto-perfurantes, o que permite que haja uma ligação directa com o plástico em fusão e deste modo uma inactivação microbiana mais rápida.

Enquanto na autoclavagem o processo de transporte de calor é feito por meio gasoso e o acesso às partes mais isoladas da carga pode não ser o melhor, aqui o calor é transmitido pelo plástico em fusão atingindo todas as zonas da carga.

## CAPÍTULO 8 – CONCLUSÕES

Este estudo provou que, para além da diminuição significativa de perigosidade dos resíduos aqui tratados, o armazenamento e o transporte destes aglomerados de plástico torna mais prático e económico todo o processo de tratamento dos resíduos corto-perfurantes do que se forem manuseados no seu estado inicial e sofrerem um tratamento por incineração.

O actual sistema gestão de R.H obriga à existência de uma rede de recolha de pequenas quantidades de resíduos e a sua aglomeração em centros de refrigeração para posterior envio para o local de tratamento final. Com este método alternativo de tratamento de R.H, todo este processo seria desnecessário.

O processo de descontaminação desenvolvido mostrou-se eficiente e simples, permitindo uma redução de 70% a 80% do volume total dos resíduos corto-perfurantes e a inactivação de qualquer agente patogénico presente ao fim de 12min dentro do protótipo.

Os materiais corto-perfurantes ficaram completamente encapsulados pelo plástico derretido da embalagem de colecta. Contudo, e caso isso não se verificasse estes ficariam igualmente protegidos pelo encapsulamento final do tubo de cartão, eliminando o risco para os profissionais que entrem em contacto com os resíduos.

O método aqui descrito pode ser adoptado em várias unidades hospitalares (grandes ou pequenas clínicas) sem necessidade de aquisição de equipamento caro ou volumoso.

Conclui-se que este protótipo consegue efectivamente transformar resíduos hospitalares perigosos em resíduos não perigosos equiparados a resíduos

sólidos

urbanos.

## **CAPÍTULO 9 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Para conclusão do projecto torna-se agora necessário ensaiar o protótipo com resíduos hospitalares corto-perfurantes reais provenientes de uma instituição hospitalar.

O objectivo deste procedimento será testar o protótipo com resíduos hospitalares corto-perfurantes contaminados reais, procedendo à realização dos ensaios microbiológicos, com a estirpe microbiológica utilizada neste trabalho experimental, em laboratório.

## BIBLIOGRAFIA

- ALCÂNTARA, F.; CUNHA, M.A.; ALMEIDA, M.A. - Microbiologia: Práticas Laboratoriais. Edições Universidade de Aveiro, 2ª ed., Portugal.
- ALLSOPP, M.; COSTNER, P.; JOHNSTON, P. – Incineration and human health. Environmental Science & Pollution Research, 2001.
- AMBIMED & BUFFER – Apresentação do serviço de gestão integrada de resíduos hospitalares. Torres Vedras: Ambimed & Buffer. AEIE, 2003.
- ARMOND, G. A. – Reprocessamento de artigos médico-hospitalares de uso único. In: MARTINS, M. A. – Manual de infecção hospitalar: epidemiologia, prevenção, controle. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001.
- ARMOND, G. A. – Gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. In: MARTINS, M. A. – Manual de infecção hospitalar: epidemiologia, prevenção, controle. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001.
- BAILAR, J. – How dangerous are dioxins? New England Journal of Medicine. 324 (1991).
- BASEL CONVENTION Nº 97/012 – Full Text
- BOAVENTURA, R. et al. – Os resíduos hospitalares e a saúde pública. In: CASTRO, A. G.; DUARTE, A.; SANTOS, T. R. – O ambiente e a saúde. Lisboa: Instituto Piaget, 2003.

- BROCK - Biology of Microorganisms. Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Parker, J.; 10ª ed. Prentice Hall international, New Jersey.
- BROOK, P. S. – Health care waste management in medical institutions: practical approach. Copenhaga: WHO (2000).
- CAETANO, E. – O internamento em hospitais: elementos tecnológicos. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.
- CASAL, M.; SCHULLER, D.; RODRIGUES, G.; PAIS, C. – Métodos convencionais em microbiologia.
- CIRCULAR INFORMATIVA nº 18/2003, de 16 de Abril, da DGA.
- COLLINS, C. H.; KENNEDY, D. A. – The microbiological hazards of municipal and clinical wastes. Journal Applied Bacteriology, 73 (1992).
- CORREIA, M. S. P. G. – As ONGA como actores da política de ambiente. O caso dos resíduos hospitalares. Lisboa. Universidade Católica Portuguesa, 2002.
- DECRETO-LEI n.º 178/06, de 5 de Setembro
- DECISÃO n.º 97/283/CE, da Comissão, de 21 de Abril
- DECISÃO n.º 2000/345/CE, da Comissão, de 22 de Maio de 2000
- DECRETO-LEI n.º 85/2005, de 28 de Abril
- DECRETO-LEI n.º 239/97, de 9 de Setembro
- DECRETO-REGULAMENTAR n.º 9/90, de 19 de Abril



- DESPACHO n.º 16/90 do Ministério da Saúde, de 21 de Agosto
- DESPACHO n.º 242/96 do Ministério da Saúde, de 13 de Agosto
- DESPACHO CONJUNTO DOS Ministérios da Saúde e do Ambiente, n.º 761/99, de 25 de Agosto.
- DIRECÇÃO GERAL DA SAÚDE – Resíduos hospitalares 2002: relatório. Lisboa: DGS, Divisão de Saúde Ambiental, 2003.
- DIRECÇÃO GERAL DA SAÚDE – Resíduos hospitalares 2005: relatório. Lisboa: DGS, Divisão de Saúde Ambiental, 2006.
- DIRECTIVA n.º 2000/76/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 4 de Dezembro.
- DIRECTIVA n.º 88/609/CEE, do Conselho, de 24 de Novembro.
- DIRECTIVA n.º 89/369/CEE, do Conselho, de 8 de Junho
- DGA (1995) – Projecto para um Plano Nacional de Resíduos. Lisboa: DGA.
- ECRI (1991). Comprehensive Waste Management. Healthcare Environment Management System. November, December.
- ECRI (1998). Comprehensive Waste Management. Healthcare Environment Management System. January.
- ENVIESTUDOS – Empresa de Consultadoria
- FEIJÃO, M. P. – Gestão de resíduos hospitalares. Lisboa.

- FROBISHER, M, Cultyvo y crecimiento de las bacterias. In: Microbiologia, 5ª Ed., Barcelona, Salvat Editores S.A., 1978.
- GODINHO, R.; RODRIGUES, J. P.; PENHA, A. – Monitorização contínua da qualidade do ar. In: VALORSUL – Valorizar os resíduos – monitorizar o ambiente. Lisboa: Valorsul, 2001.
- GONÇALVES, M. – Módulo VIII – Resíduos Hospitalares. In: GONÇALVES, M. - Gestão de resíduos sólidos. Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2005.
- LOPES, A. M.; FONSECA, A. (1996) - Biologia Microbiana. Universidade Aberta, Portugal.
- MADEIRA, C. M. P. (1995) - Tratamento de Resíduos Hospitalares e Saúde Pública. Lisboa: Associação Portuguesa de Infecção Hospitalar.
- MARTINHO, M. G.; GONÇALVES, G. (2000). - Gestão de Resíduos Urbanos. Universidade Aberta, 2000.
- MARTINS, R. – Riscos dos agentes biológicos na recolha, transporte e tratamento dos resíduos. In: SOUSA, J. P. et al. – Riscos dos agentes biológicos: manual de prevenção. Lisboa: Instituto de Desenvolvimento e Inspeção das Condições de Trabalho, 2001.
- OLIVEIRA, A. C.; ARMOND, G. A. – Limpesa, desinfecção e esterilização de artigos médico-hospitalares. In: MARTINS, M. A. – Manual de infecção hospitalar: epidemiologia, prevenção, controle. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001.
- OMS – Manual de bioseguridade en el laboratorio. 2ªed. Geneve: Organización Mundial da Saúde, 1994.

- OMS e CEPIS – Organización Mundial de la Salud y Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (1994) Guia para el manejo interno de residuos sólidos hospitalarios. Lima: OMS e CEPIS.
- OSHA – Occupational exposure to bloodborne pathogens: needlestick and other sharps injuries: final rule. Federal Register: 66:5317-5325
- OTA (1990). The RX for Managing Medical Waste. Office of Technology Assessment Washington, DC: US Congress. Government Printing Office.
- PEREIRA, A.; POUPA, C. – Como escrever um tese, monografia ou livro científico usando o Word. Lisboa: ENSP, 2003.
- PERH (1999) – Plano Estratégico dos Resíduos Hospitalares. Lisboa: Edição do Instituto de Resíduos.
- PORTARIA n.º 125/97, de 21 de Fevereiro
- PORTARIA n.º 174/97, de 10 de Março
- PORTARIA n.º 178/97, de 11 de Março
- PORTARIA n.º 335/97, de 16 de Maio
- PORTUGAL-RAMOS, M.; RAMOS, M. M.; MONTEIRO, H.; LOBATO - FARIA, A.; PÁSSARO, D.A. (1999). Plano Estratégico dos Resíduos Hospitalares. Ministérios da Saúde e do Ambiente. Lisboa.
- PRUSS, A., GIROULT, E.; RUSHBROOK, P. (1998) Safe Management of Wastes from health-care activities. Geneve: Word Health Organization.
- SILVA, M. – Descontaminação química de resíduos líquidos orgânicos hospitalares contaminados. FEUP, Porto 2001.

- SMITH, W. F. – Princípios de ciência e engenharia dos materiais. McGraw Hill, 3ªed.
- SPS – Serviços Partilhados em Saúde: <http://www.somos.pt/pt-PT/central.aspx>
- SUCH – Tratamento do ambiente, qualidade, experiência e eficácia. Lisboa: Serviço de Utilização Comum dos Hospitais, 1999.
- REINHARDT, P. A.; GORDON J. G. (1991) - Infectious and Medical Waste Management. Lewis Publishers. January.
- TAVARES, A. – A gestão dos resíduos hospitalares e o papel da autoridade de saúde – caso do conselho da Amadora. Lisboa, 2004.
- TURNBERG, W. L. (1996) - Biohazardous Waste: Risk Assessment, Policy, and Management. John Willey & Sons, Incorporated, March.
- USEPA (1986) – EPA Guide for Infectious Waste Management. United States Environment Protection Agency. May.
- USEPA (1993) – Code of federal regulations, parts 190 to 259: standards for the tracking and management of medical waste. Washington DC: Government Printing Office, 1993.
- USEPA (1996) – Federal plan requirements for hospital/medical/infectious waste incinerators constructed on or before June 20. Washington DC: Federal register. 65: 158.
- WAGNER, K. D. (1998) - Environment Management in Healthcare Facilities. Saunders W. B. Co, January, 1ª Edition.

- WHO (1985) - Management of waste from hospitals and other health care establishments. EURO Reports and studies 97. Regional Office for Europe. Copenhagen.
- WHO (1991-1993). Urban Solid Waste Management. World Health Organization. Regional Office for Europe. Copenhagen.
- WHO (1999) - Safe Management of Wastes from Health-Care Activities. Annette Prüss, E. Giroult, P. Rushbrook (eds.).

## **ANEXO A**

### **Protocolos Experimentais**

### Contagem pelo método turbidimétrico

- Colocou-se um matraz contendo cerca de 100ml de NB+G na incubadora orbital a 35°C e deixou-se a temperatura estabilizar durante pelo menos 10 minutos.
- Retirou-se o matraz da incubadora com uma pipeta estéril de 5ml, retirou-se 3ml para um tubo de ensaio e usou-se como branco para a leitura da densidade óptica a 600nm.
- Da suspensão de *Escherichia coli* retirou-se, 1ml e leu-se a D.O. Calculou-se o volume desta suspensão que se usou para inocular o meio fresco ( $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$ ).
- Inoculou-se o meio fresco utilizando uma pipeta estéril; Agitou-se, e retirou-se 1ml do meio inoculado para um tubo de ensaio e efectuou-se a leitura da absorvância no espectrofotómetro a 600 nm.
- Colocou-se o matraz na incubadora orbital e iniciou-se a contagem do tempo.
- Realizaram-se leituras de absorvância em intervalos de cerca de cerca de 15 minutos tendo o cuidado de repor o matraz o mais rapidamente possível na incubadora.
- Com os valores da absorvância traçou-se a curva de crescimento, indicando as condições de crescimento.
- Calculou-se a taxa de crescimento e o tempo de geração da cultura.

### Contagem de células viáveis

- Colocou-se um matraz contendo cerca de 100ml de NB+G na incubadora orbital a 35°C e deixou-se que a temperatura estabilizar durante pelo menos 10 minutos.
- Retirou-se o matraz da incubadora e com uma pipeta estéril de 5ml retirou-se 3ml para um tubo de ensaio e usou-se como branco para a leitura da densidade óptica a 600nm.
- Da suspensão de *Escherichia coli* retirou-se, 1 ml e leu-se a D.O. (densometria óptica) Calculou-se o volume desta suspensão que se usou para inocular o meio fresco ( $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$ ).
- Inoculou-se o meio fresco utilizando uma pipeta estéril. Agitou-se, e retirou-se, assepticamente, 0.1ml do meio inoculado para uma placa de Petri com PCA e espalhou-se (efectuou-se o duplicado).

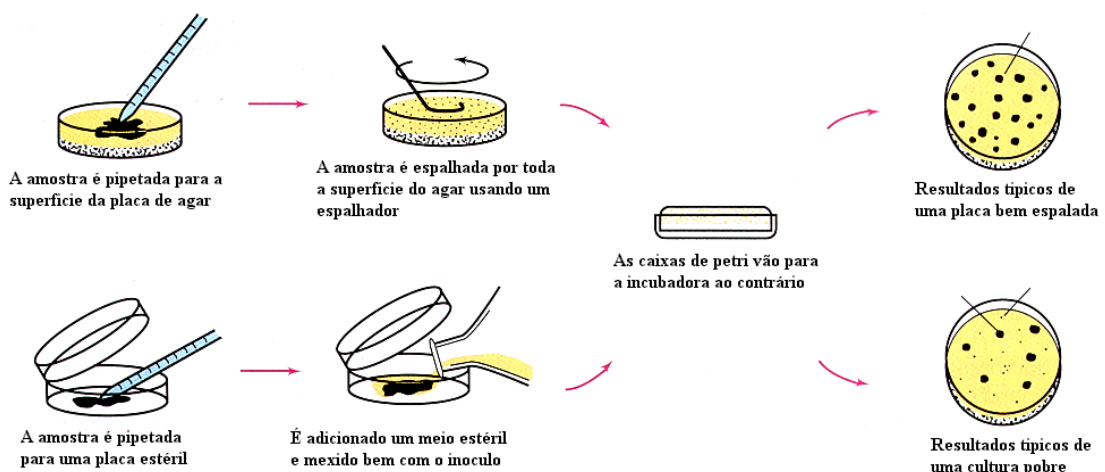


Fig.1 - Diferentes métodos de efectuar a contagem de células.

- Colocou-se o matraz na incubadora orbital e iniciou-se a contagem do tempo;

- Efectuaram-se espalhamentos em placas de PCA em intervalos de tempo de cerca de 30 minutos tendo o cuidado de repor o matraz o mais rapidamente possível na incubadora.
- Efectuaram-se as diluições que foram necessárias em frascos com 9 ml de solução salina estéril e tubos de ensaio com 9 ml de solução salina estéril;

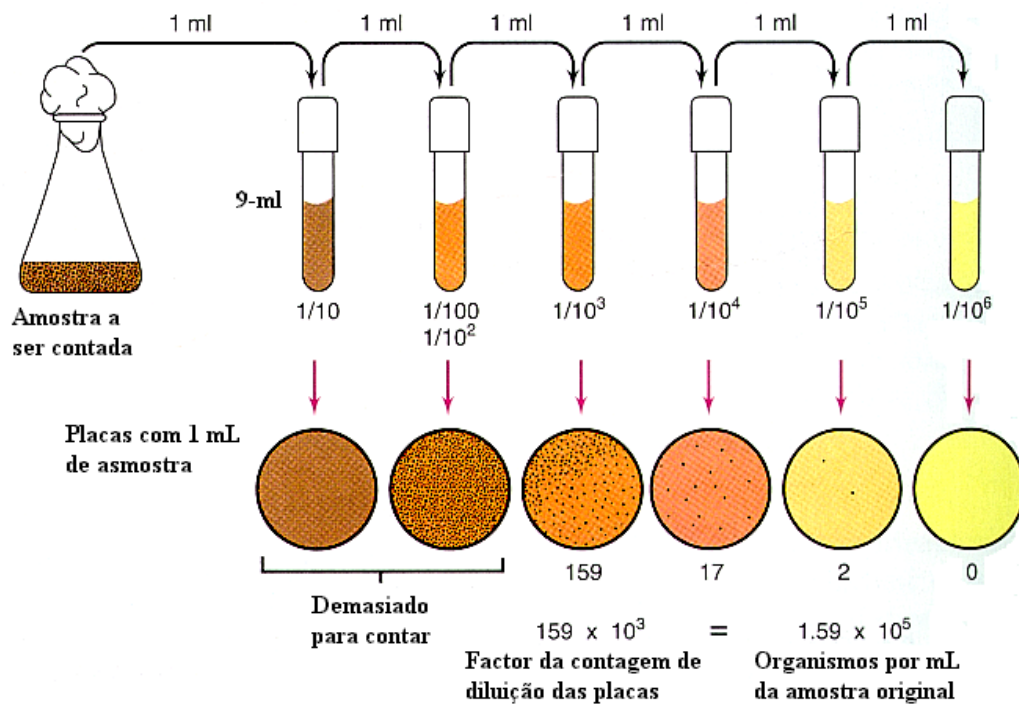


Fig.2 - Procedimento para a contagem de células viáveis.

- Colocaram-se as placas na incubadora (30°C) em posição invertida durante 48 horas.
- Efectuou-se a contagem de unidades formadoras de colónias e calculou-se o número de células por mL.
- Com os valores da absorvância traçou-se a curva de crescimento, indicando as condições de crescimento.



Para a obtenção deste organismo foi necessário realizar alguns procedimentos, uma vez que esta estirpe vem num duplo frasco sob a forma de cultura desidratada:

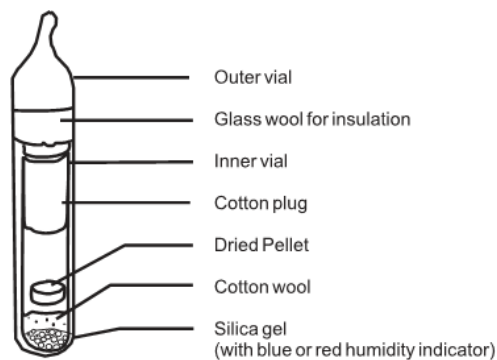
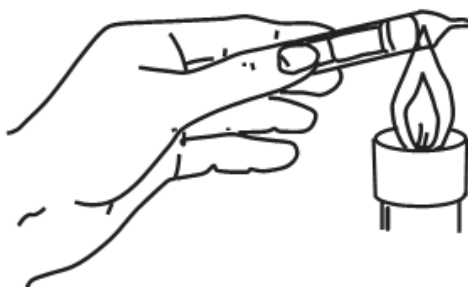
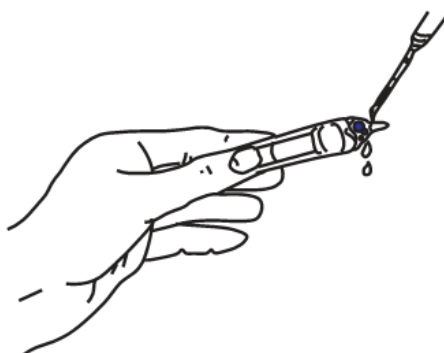


Fig.3 – Ampola que contém o indicador biológico.

- Aqueceu-se a ponta da ampola, selada e sob vácuo, numa chama.



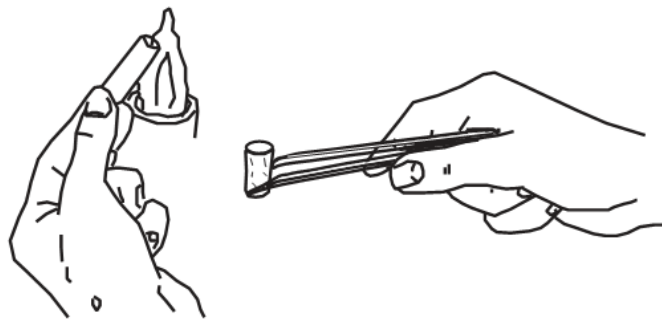
- Colocou-se duas ou três gotas de água sobre a ponta da ampola quente para quebrar o vidro.



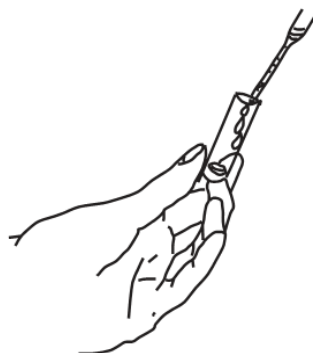
- Cuidadosamente cortou-se o vidro da ponta da ampola com o auxílio de uma pinça.



- Removeu-se o material de isolamento com uma pinça e retirou-se o frasco interior.
- Levantou-se o algodão usando uma pinça, removeu-se e manteve-se em condições estéreis a parte superior do frasco interior.



- Adicionou-se 0,5 ml de meio de hidratação e permitiu-se hidratar por cerca de 30 minutos.



Após a hidratação da cultura procedeu-se à sua inoculação em meio líquido para utilização no protótipo e posteriormente em meio sólido para verificar a inactivação microbiana do ***Bacillus subtilis***.

As regras a seguir apresentadas foram comuns a ambos os processos de inoculação e estiveram sempre presentes durante a manipulação do microorganismo em causa:

- Utilizou-se sempre uma bata limpa.
- Limpou-se a bancada de trabalho convenientemente com álcool etílico a 70% (v/v) e manteve-se o material arrumado.
- Lavaram-se as mãos no início e no final de cada sessão de trabalho experimental.
- Mantiveram-se os bicos de Bunsen e as lamparinas acesas apenas enquanto eram necessários.
- Identificou-se todo o material utilizando marcadores de vidro.
- Colocaram-se as pipetas de vidro sujas em contentores de plástico com uma solução com detergente (hipoclorito de sódio), devidamente identificados para esse fim.
- Colocaram-se as pontas sujas das pipetas automáticas num recipiente, devidamente identificado para esse fim.
- Os recipientes estiveram abertos o mínimo tempo possível e, enquanto abertos, todo o trabalho foi realizado junto à chama do bico de Bunsen.
- Uma vez abertos os recipientes, como tubos, balões e frascos, o seu bocal foi flamejado de imediato.
- Os recipientes foram sempre ser abertos próximos à chama do bico de Bunsen.
- Evitou-se ao máximo que as tampas dos tubos e placas ficassem sob a bancada durante o cultivo.

- As ansas foram esterilizadas pela passagem na chama do bico de Bunsen, antes e depois de serem utilizadas (Fig.19). Foram ser aquecidas até ficarem ao rubro para assegurar que todos os esporos eram destruídos.

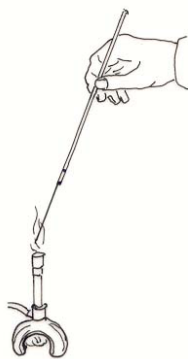


Fig.4 – Esterilização de uma ansa por flamação à chama do bico de Bunsen.

- Para transferir culturas, meios e soluções estéreis utilizaram-se pipetas graduadas ou pipetas de Pasteur estéreis.
- Quando se manipularam frascos, balões ou tubos de ensaio foram sempre em condições assépticas (Fig.20).

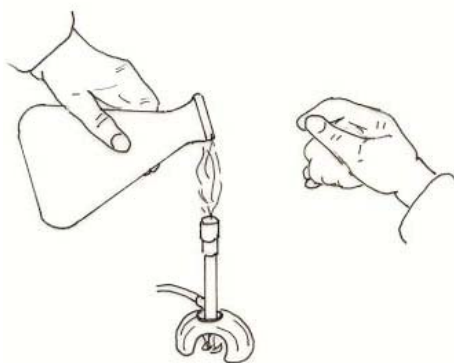


Fig.4 – Flamejação do gargalo de um frasco.

- Os espalhadores foram usados para distribuir inóculos sobre a superfície de placas já preparadas com meios de cultura (Fig.21) e esterilizados com álcool entre cada utilização (Fig.22).

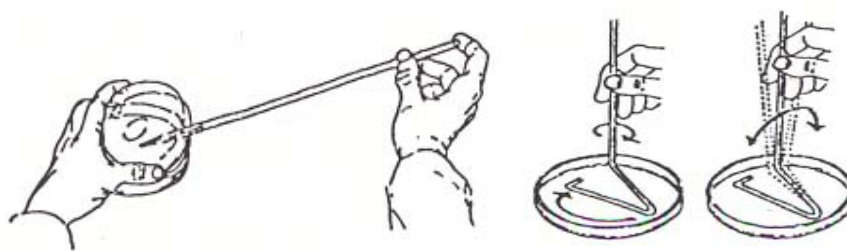


Fig.5 – Espalhamento de uma suspensão de microrganismos num meio sólido.

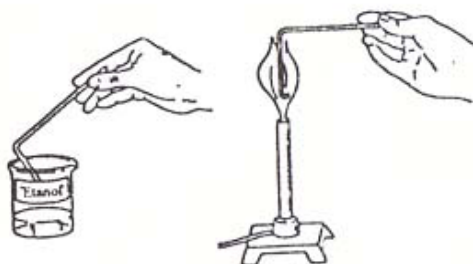


Fig.6 - Esterilização de espalhadores com álcool.